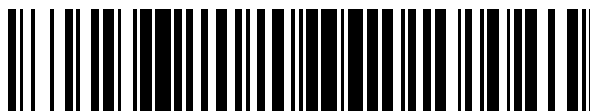


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 818 999**

51 Int. Cl.:

A23K 10/18 (2006.01)

A01K 15/02 (2006.01)

A23K 20/163 (2006.01)

A23K 50/42 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.11.2018 E 18204248 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.07.2020 EP 3479701**

54 Título: **Juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal y método de preparación del juguete**

30 Prioridad:

03.11.2017 TW 107104697

01.02.2018 CN 201810100061

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

14.04.2021

73 Titular/es:

**KYORIN INDUSTRY (SHENZHEN) CO., LTD
(100.0%)**

**Da Feng Gong Ye Cun Da Kang Xiang Heng Gang
Zhen
518115 Shen Zhen, CN**

72 Inventor/es:

**WONG, TOMMY CHI-KIN;
CLEVERS, CHRISTOPHER KENNETH y
CHIEN, TIN-HAN**

74 Agente/Representante:

LÓPEZ CAMBA, María Emilia

ES 2 818 999 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal y método de preparación del juguete

5 **CAMPO DE INVENCION**

La presente invención se refiere al campo de juguetes masticables para mascotas, y más particularmente a un método para crear un juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal.

10 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Con una mejora en los medios financieros en muchas partes del mundo, las mascotas se han convertido en una parte importante de la vida de las personas. Hoy en día, los dueños de mascotas tienen una tendencia a cuidar mejor a sus mascotas que ellos mismos y el vínculo directo entre una buena higiene dental y la salud a largo plazo de las mascotas es cada vez más evidente. Los restos de comida tienden a adherirse a los dientes de las mascotas, especialmente en los perros y gatos, causando la acumulación de sarro y el cálculo dental que proporcionan un caldo de cultivo para las bacterias. En última instancia, esto puede conducir a enfermedades periodontales, fracturas dentales, fracturas mandibulares y estomatitis. En general, se reconoce que la periodontitis es un resultado directo de la acumulación de bacterias como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, y *Fusobacterium nucleatum*. Las enfermedades orales ocurren cuando se altera el equilibrio microbiano en la boca de una mascota. Además, numerosas enfermedades orales pueden agravar aún más cualquier desequilibrio de la flora microbiana, entrando en un círculo vicioso e imparable. Por ejemplo, los informes han indicado que la incidencia de una enfermedad periodontal en perros de 2 a 8 años de edad es de aproximadamente del 60% al 80%, mostrando una correlación positiva con la edad. Los principales métodos de tratamiento para las enfermedades orales de las mascotas incluyen la limpieza oral, la eliminación del sarro y el cálculo mediante ondas ultrasónicas, herramientas manuales o la prescripción de antibióticos antiinflamatorios de amplio espectro. Sin embargo, lleva mucho tiempo, es laborioso y costoso realizar la limpieza bucal de los dientes de las mascotas; El uso de antibióticos puede lograr una cierta eficacia en los aspectos curativos a corto plazo, sin embargo, los antibióticos rompen el equilibrio de la flora microbiana natural y deseable en la boca y el tracto digestivo de las mascotas y exacerban los problemas orales a largo plazo. Además, debido a las tendencias de las mascotas de lamer, especialmente los perros, las mascotas con enfermedades bucales pueden propagar fácilmente estos gérmenes a las superficies de la piel humana (boca, cara, brazos, etc.) y poner en peligro la salud del dueño de la mascota, especialmente grave para bebés, niños pequeños y ancianos, cuyos sistemas inmunes son relativamente débiles. También ha habido casos en que los dueños de mascotas han exhibido reacciones adversas después de ser lamidos por su mascota enferma por vía oral. Hasta la fecha, no ha habido una solución identificable ni factible para el problema antes mencionado.

Los masticables para mascotas son juguetes para mascotas hechos de forma que se asemejen a un hueso, bola, anillo, zapato, palo, chupete, etc. Los juguetes masticables para perros son los más comunes en el mercado en la actualidad. Dado que los perros tienen la costumbre de morder y luego roer, los masticables para perros generalmente están disponibles en formas adecuadas para que el perro juegue. Más importante aún, algunos juguetes masticables para perros están destinados específicamente a limpiar los dientes y masajear las encías. Una combinación de utilizar un juguete masticable para perros con un cepillado frecuente de los dientes con la mano regularmente puede retrasar la formación de placa dental y la acumulación de sarro. Sin embargo, los efectos de cepillarse los dientes con regularidad generalmente no son satisfactorios, ya que no es una tarea fácil, cepillar meticulosamente los dientes de los perros sin ninguna omisión y la mayoría de las personas no se comprometen a un régimen diario de cepillado. Por lo tanto, la utilización de juguetes masticables para perros puede ayudar a lograr un efecto deseable para mitigar la gingivitis y prevenir la acumulación de sarro al tiempo que fortalece y limpia los dientes durante el proceso de masticación. Además, los perros más jóvenes generalmente sufren picazón en las encías durante la dentición. Darles a los perros juguetes masticables no solo satisface la necesidad de masticar de los caninos y alivia la incomodidad de la dentición, sino que también limpia la boca y promueve la salud bucal y el desarrollo de la mandíbula.

Los juguetes convencionales masticable de mascotas están hechos de varios materiales. Por ejemplo, muchos productos masticables están hechos de materiales derivados de animales, como pieles de vaca o de cerdo. También hay masticables moldeados con goma, en forma de palo o en forma de bola hechos de almidón, proteína animal en polvo y fibra alimentaria. A lo largo de los años, se ha lanzado al mercado una amplia variedad de juguetes masticables para mascotas en un intento por mejorar el cuidado bucal de las mismas. Algunos se centraron en la estructura y la capacidad de limpieza mecánica del juguete masticable. Por ejemplo, las patentes de los Estados Unidos No. 5.296.209 y 5.407.661, ambas de Simone et al., describen un producto masticable para mascotas con una matriz celular flexible hecha de material fibroso de celulosa, que tiene una función de limpieza mecánica destinada a reducir la placa y el sarro en los dientes de las mascotas. La Patente 5.431.927 de Hand et al. describe un alimento para mascotas que contiene mezclas de carbohidratos, proteínas, grasas y vitaminas, que tiene una matriz de estructura estriada expandida que se rompe cuando es masticada por una mascota, creando una función mecánica de limpieza dental. La Patente. No. 6,904,870 de Russell-Maynard et al. describe una composición de polímeros que tiene una fase continua y una fase discontinua en una proporción tal que la fuerza de mordida anticipada ejercida por la mascota es mayor y, por lo tanto, mejora la higiene dental.

Sin embargo, los juguetes convencionales masticable para mascotas se centran solo en la propiedad física de la fricción masticatoria para frotar y limpiar los dientes de las mascotas. Aunque estos ejemplos pueden eliminar los restos de comida y reducir la formación de cálculos y placas dentales en cierta medida, generalmente no pueden eliminar la incidencia de la acumulación de sarro y el cálculo dental.

5 Además, los ingredientes químicos para eliminar la placa y el sarro también se usan en diversas aplicaciones, con algunos agentes antimicrobianos y antidescomposición en alimentos para mascotas o juguetes masticable. Por ejemplo, la patente de EE.UU. No 5.094.870 de Scaglione et al. presentan galletas para perros que contienen al menos una sal de pirofosfato inorgánico que reduce o previene la acumulación de sarro en los dientes de las mascotas. Las Patentes. No. 5.011.679, 5.047.231 y 5.114.704, todas de Spanier et al., describen un proceso de preparación de productos masticables de cuero crudo que tienen un recubrimiento que contiene al menos un compuesto de pirofosfato inorgánico destinado a reducir o prevenir la acumulación de sarro al ser masticado y/o comido por las mascotas. La Patente No. 5.100.651 de Boyer describe un producto de salud para el cuidado de los dientes de perros que contiene fluoruro, bromoclorofeno y benzoato de sodio. La Patente No. 5.296.217 de Stookey describe un método para prevenir el cálculo dental usando agentes quelantes, que forman complejos de calcio solubles en la saliva y fluidos de placa dental, evitando así la calcificación de la placa dental. La Patente No. 5.310.541 de Montgomery describe un producto masticatorio antimicrobiano para animales que contiene una o más enzimas y sustratos con el fin de generar compuestos antimicrobianos para la prevención del sarro, tales como hipotiocianato, tiocianato y yodideiones. La Patente No. 5.467.741 de O'Rourke describe un juguete masticable para perros en el que las fibras retorcidas están impregnadas con uno o más agentes refrescantes o aromatizantes. La Patente. 5.618.518 de Stookey describe un producto masticable que ayuda en contra de la acumulación de cálculos dentales que contiene hexametáfosfato de sodio. La Patente No. 5.908.614 de Montgomery describe una composición para el cuidado bucal activadora de peroxidasa que contiene un precursor de peróxido de hidrógeno no enzimático, siendo este soluble en agua y un agente para ajustar el pH. La Patente No. 5.989.604 de Wolf et al. describe un alimento para mascotas que contiene una cantidad efectiva de xilitol para reducir la incidencia de caries dentales en animales. La Patente. 6.365.133 de Rich describe un juguete de masticación para perros cubierto con una pasta de dientes seca contra el sarro en su superficie exterior.

30 La fórmula de pasta de dientes para mascotas se encuentra compuesta de fosfato dicálcico, piedra pómez y uno o más agentes espesantes y aglutinantes destinados a reducir eficazmente el sarro en los dientes en las mascotas. Aunque algunos inventos son una combinación de beneficios tanto para el cuidado oral de forma mecánica como química, no abordan el desequilibrio de la flora microbiana oral y/o la reproducción de gérmenes de la causa raíz y, por lo tanto, no logran un efecto más deseable para la salud oral de una mascota.

35 Los probióticos son microbios vivos, que pueden mejorar y mantener el equilibrio microbiano del huésped cuando se administran a animales. Hay productos alimenticios para mascotas con probióticos agregados como Bacillus o Lactobacillus. Sin embargo, estos productos alimenticios para mascotas se desarrollaron principalmente para apoyar la salud intestinal de las mascotas y ofrecen poco o ningún beneficio en relación con la prevención de enfermedades orales o la proliferación y transferencia de gérmenes a los miembros de la familia de la mascota. Además, los alimentos solo permanecen dentro del área de la boca durante un período de tiempo muy corto antes de ser ingeridos, lo que elimina la posibilidad de que los probióticos en los alimentos puedan activarse, reproducirse o colonizarse y, en consecuencia, estos productos mejorados con probióticos no se desarrollan lo suficiente para formar flora probiótica predominante en la boca.

45 Los juguetes masticables para mascotas que comprenden soja fermentada en una matriz moldeada se describen en el documento US 2006/0110500.

SUMARIO DE LA INVENCION

50 Brevemente, la presente invención está destinada a superar los inconvenientes mencionados anteriormente de los productos anteriores, proporcionando un método, que se define por la preparación de un juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal reales y verificables

55 - La invención pertenece a la categoría de juguetes para mascotas en lugar de comida para mascotas.

-
La invención proporciona un método para preparar un juguete masticable para mascotas con propiedades para el cuidado bucal que comprende un cuerpo principal, adhesivos, probióticos y prebióticos, en el que dicho método comprende los siguientes pasos:
Medir los ingredientes de dicho juguete masticable para mascotas; aplicar una parte de adhesivo a la superficie del cuerpo principal, y luego aplicar una premezcla de probióticos, prebióticos y adhesivo a la superficie del cuerpo principal para obtener dicho juguete masticable para mascotas con propiedades para el cuidado de la salud bucal; En donde el adhesivo aplicado a la superficie del cuerpo principal es diferente del adhesivo premezclado con los probióticos y prebióticos;

En el que dicho cuerpo principal comprende al menos uno de tejidos, caucho, plástico, almidón, proteínas, fibras y polvo de huesos y/o un juguete para mascotas disponible comercialmente; en donde dichos adhesivos son de origen vegetal y/o animal definidos a continuación.

5 Para resolver los problemas técnicos, la presente invención emplea la solución técnica de la siguiente manera:
Un juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal, en el que el juguete masticable para mascotas comprende un cuerpo principal, adhesivos, probióticos y prebióticos.

10 Preferiblemente, el juguete masticable para mascotas tiene una característica de flexibilidad y ductilidad que los hace duradero, y los probióticos, prebióticos y adhesivos contenidos en el juguete masticable son liberados por la ductilidad de este, para mascotas durante el proceso de masticación de la mascota.

15 El cuerpo principal está hecho de materiales que incluyen al menos tejidos, caucho, plástico, almidón, fibras, huesos en polvo y proteínas; las proteínas incluyen, pero no se limitan a proteínas vegetales y pieles de animales, además, el cuerpo principal comprende un juguete para mascotas disponible comercialmente.

20 Los adhesivos son adhesivos de origen vegetal y/o animal; los adhesivos de origen vegetal vienen comprendidos de al menos almidón, celulosa, taninos, goma arábica y alginato de sodio; Los adhesivos de origen animal incluyen, pero no se limitan a, cola de huesos, gelatina de pescado, cola de albúmina, caseína y goma laca.

Preferiblemente, los probióticos son un grupo de probióticos intestinales humanos que son beneficiosos para el cuerpo humano. Los probióticos incluyen *Bifidobacterium* y/o *Lactobacillus* y/o probióticos *Bacillus*.

25 Preferiblemente, la Bifidobacteria incluye, pero no se limita a *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium adolescentis*, y *Bifidobacterium longum*. Se aplica al menos una de las especies mencionadas.

30 Preferiblemente, el lactobacilo incluye, pero no se limita a *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, y *Lactobacillus salivarius*. Se aplica al menos una de las especies mencionadas.

35 Preferiblemente, los bacilos incluyen, pero no se limitan a *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis*, y *Bacillus licheniformis*. Se aplica al menos una de las especies mencionadas.

Preferiblemente, los probióticos son combinaciones que comprenden al menos una o más cepas de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y *Bacillus* que se mezclan en cualquier proporción.

40 Preferiblemente, los medios de cultivo y los métodos de cultivo de los probióticos son convencionales en los campos relacionados.

Preferiblemente, los probióticos se incorporan con una cantidad apropiada de protectores liofilizados.

45 Los gránulos de bacterias vivas se mezclan con protectores liofilizados y proceden a la liofilización para obtener el polvo de probióticos aplicado.

50 Preferiblemente, los prebióticos incluyen, pero no se limitan a oligosacáridos funcionales; los oligosacáridos funcionales incluyen, pero no se limitan a, isomaltooligosacáridos, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, xilooligosacáridos, lactosucrosa, oligosacáridos de soja e inulina.

55 Preferiblemente, los juguetes masticables para mascotas son flexibles y dúctiles. Durante el proceso de masticación, los probióticos, prebióticos y adhesivos contenidos en los juguetes masticables se dispersan y se activan. La ductilidad intrínseca de los juguetes masticables para mascotas y la exposición prolongada a las superficies en la boca del animal que crea esta ductilidad, junto con la incapacidad de la mascota de consumir rápidamente dichos juguetes masticables, lo que crea una oportunidad perfecta para que los beneficios del cuidado dental prosperen.

60 Los juguetes masticables para mascotas constan de tres componentes: Un cuerpo principal hecho de almidón, proteína animal y/o vegetal en polvo y polvo de hueso; adhesivos a base de plantas y/o animales; una pluralidad de componentes para el cuidado dental hechos de probióticos, prebióticos y adhesivos. Los componentes de cuidado dental están dispuestos en la superficie del cuerpo principal.

65 Preferiblemente, los juguetes de masticación para mascotas deberán estar compuestos de 0.1% -3% (M/M) de probióticos en polvo, 1% -20% (M/M) de prebióticos, 15% -40% (M/M) de almidón, 25% -45% (M/M) de proteína animal/vegetal en polvo, 5% -15% (M/M) de hueso en polvo y 0.5% -10% (M/M) de adhesivos.

Preferiblemente, los juguetes de masticación para mascotas deberán estar compuestos de 0.1% -1% (M/M) de probióticos, 10% -20% (M/M) de prebióticos, 20% -35% (M/M) de almidón, 30% - 40% (M/M) de proteína animal/vegetal en polvo, 5% -15% (M/M) de hueso en polvo y 0.5% -10% (M/M) de adhesivos.

5 El método de preparación de un juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal puede incluir que los ingredientes que se masticarán mencionados anteriormente se midan de acuerdo con la proporción y se mezclen completamente para presionar o moldear en formas designadas.

10 El método de preparación de un juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal puede incluir que los ingredientes de masticación mencionados anteriormente se midan de acuerdo con la proporción, y los ingredientes, excepto los probióticos, los prebióticos y el adhesivo, se mezclen completamente para prensar o moldear en formas designadas. Una parte del adhesivo se aplica a la superficie del cuerpo principal, y los prebióticos, prebióticos y adhesivos premezclados se aplican a la superficie del cuerpo principal.

15 El método de preparación de un juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal puede necesitar que los ingredientes mencionados anteriormente se midan de acuerdo con la proporción adecuada y se mezclen completamente. Una parte del adhesivo se aplica a la superficie del cuerpo principal (como en los juguetes para mascotas disponibles en el mercado), y los prebióticos, prebióticos y adhesivos premezclados se aplican a la superficie del cuerpo principal.

20 Todos los juguetes masticables para mascotas hechos de los materiales mencionados anteriormente, a menos que se especifique lo contrario, se producen con técnicas y métodos convencionales en los campos relacionados. De acuerdo con las técnicas de fabricación descritas, es posible una mayor expansión de la escala de producción si se combina con el conocimiento básico de los campos relacionados.

25 Los efectos beneficiosos mejorados de la presente invención son:

La presente invención se refiere a un método que proporciona un juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal y tiene una característica de flexibilidad y ductilidad que lo hace duradero durante el proceso de masticación. El juguete masticable para mascotas no solo satisface la necesidad de la mascota de masticar y roer, sino que la ductilidad ofrece el beneficio de extender la exposición y la interacción con la boca a un período de tiempo relativamente largo. Este tiempo de contacto prolongado libera de manera efectiva los probióticos, prebióticos y adhesivos contenidos durante la masticación y les permite adherirse a las superficies de la boca en niveles suficientemente elevados para que puedan proporcionar beneficios reales para el cuidado bucal. Además, el tiempo de contacto prolongado con los dientes ayuda a limpiar los dientes de la mascota y la mezcla de los probióticos, prebióticos y adhesivos que se han adherido a las superficies bucales de la mascota de manera eficiente: (1) Los probióticos para promover la colonización del probiótico (2) los probióticos para formar la flora bacteriana predominante, (3) El probiótico para inhibir el crecimiento de gérmenes indeseables en la boca de la mascota mientras promueve una salud oral más ideal (4) el probiótico para ayudar a eliminar el aliento fétido.

40 El cuerpo principal, los adhesivos y los prebióticos de la presente invención juegan un papel en la incrustación, permitiendo que los probióticos se activen solo cuando se humedecen con la humedad de la boca o la saliva de la mascota. Una vez que la humedad ya no está presente o se evapora y el juguete masticable se seca, los probióticos vuelven a su estado original y latente hasta la próxima activación. Por lo tanto, la presente invención es reutilizable y ofrece el mismo beneficio durante múltiples usos.

45 Preferiblemente, los prebióticos se seleccionan de isomaltooligosacáridos, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, xilooligosacáridos, lactosucrosa, oligosacáridos de soja e inulina. Los prebióticos optimizan el equilibrio microbiano al promover que los probióticos se reproduzcan y formen una flora bacteriana predominante.

50 Los prebióticos también se unen a las células bacterianas patógenas, debilitando la adhesión de las bacterias patógenas a las membranas mucosas y, por lo tanto, desempeñan un papel en la prevención de infecciones.

Los probióticos de la presente invención se seleccionan de la flora intestinal humana y, por lo tanto, tienen un efecto menos negativo para los humanos. Los probióticos colonizan la boca de la mascota durante el proceso de masticación de la mascota e inhiben los gérmenes perjudiciales para la salud humana. Los probióticos no solo mejoran la salud bucal de la mascota, sino que también reducen los riesgos para los dueños al ser lamidos por la mascota (especialmente por los perros). Preferiblemente, los probióticos son *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y *Bacillus*, tales como *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus salivarius*, y *Bacillus coagulans*. Los probióticos se implantan en la boca de la mascota, inhibiendo microorganismos nocivos y manteniendo la salud bucal. Donde, *Lactobacillus salivarius* es capaz de sobrevivir en el ambiente de pH bajo causado por *Streptococcus mutans* y por lo tanto puede inhibirlo. *Lactobacillus reuteri* secreta reuterina y reutericina, que tienen efectos antibacterianos de amplio espectro y juegan un papel importante en la prevención de la caries dental y en el mantenimiento de la salud bucal. *Bacillus coagulan* ha demostrado ser eficaz para mantener la salud oral al inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans*, apoyando el sistema inmunitario al resistir los patógenos y reducir las citocinas inflamatorias.

65

La presente invención se refiere a métodos de producción de juguetes masticables para mascotas que se pueden producir en diversas formas y métodos. Puede proporcionar un juguete para mascotas que garantizará la mejora de la salud de la mascota.

- 5 Se puede incorporar una pequeña cantidad de proteína en polvo y polvo de huesos en los juguetes masticables para mascotas, esto ayuda a que tengan mejor sabor. Sin suministrar nutrición y/o energía, los probióticos previstos son capaces de proporcionar verdaderos beneficios para el cuidado bucal durante cualquier actividad de masticación y/o molienda.

10 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 es una vista estructural del juguete masticable para mascotas correspondiente a la presente invención.

La Figura 2 es una vista estructural del juguete masticable para mascotas correspondiente a la presente invención.

- 15 La figura 3 es una vista estructural del juguete masticable para mascotas correspondiente a la presente invención.

La figura 4 es una vista estructural del juguete masticable para mascotas correspondiente a la presente invención.

- 20 Las combinaciones probióticas se cultivaron conjuntamente con *Streptococcus mutan*, y el resultado del experimento se muestra en la Fig. 5;

Las combinaciones probióticas se cultivaron conjuntamente con *Porphyromonas gingivalis*, y el resultado del experimento se muestra en la Fig. 6;

- 25 Las combinaciones probióticas se cultivaron conjuntamente con *Fusobacterium nucleatum*, y el resultado del experimento se muestra en la Fig.7;

- 30 Las combinaciones probióticas se cultivaron conjuntamente con *Tannerella forsythia*, y el resultado del experimento se muestra en la Fig. 8;

Las condiciones de crecimiento de las bacterias en la boca de los perros antes y después del experimento se muestran en la Fig. 9; y

- 35 Las condiciones de crecimiento de los probióticos en la boca de los perros antes y después del experimento se muestran en la figura 10.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES

- 40 Los anteriores y otros objetos, características y ventajas de esta descripción serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada tomada con las figuras adjuntas. Solo algunas realizaciones de la presente divulgación se han ilustrado en las figuras, pero debe señalarse que muchas otras modificaciones son concebibles dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

45 Realización 1 (Comparativa)

El juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal de esta realización comparativa comprende un probiótico, prebióticos y adhesivos para el cuerpo principal.

- 50 El juguete masticable para mascotas está compuesto de 0.1% (M/M) de probióticos, 1% (M/M) de isomalto oligosacáridos, 10% (M/M) de celulosa, 20% (M/M) de gelatina de pescado, 23.9% (M/M) de cola de albúmina en sangre, 40% (M/M) de almidón y 5% (M/M) de polvo de hueso.

- 55 En donde, los probióticos se componen de *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis*, y *Bacillus licheniformis*.

- 60 Los probióticos de bifidobacterias (incluyendo *Bifidobacterium bifidum*, y *Bifidobacterium breve*) se preparan inoculando *Bifidobacterium bifidum* y *Bifidobacterium breve* al 5% en un medio líquido BS respectivamente y se cultivan a 37°C durante 48 horas, y se recogen las bacterias. Los recuentos de bacterias vivas de *Bifidobacterium bifidum* y *Bifidobacterium breve* son de 1.0-5.0x10⁸ ufc/g respectivamente.

- 65 Los probióticos lactobacillus (incluyendo *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*, y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*) se preparan inoculando *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*, y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* al 5% a un medio líquido MRS respectivamente y se cultivan a 37°C durante 48 horas, y se recogen las

bacterias. Los recuentos de bacterias vivas *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*, y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* son $1.0-5.0 \times 10^8$ ufc/g respectivamente.

5 Los probióticos de bacilo (incluyendo *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis*, y *Bacillus licheniformis*) se preparan inoculando *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis*, y *Bacillus licheniformis* al 5% al medio LB y se cultivan a 37°C durante 48 horas, y las bacterias están conectadas. Los recuentos de bacterias vivas *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis*, y *Bacillus licheniformis* son $1.0-5.0 \times 10^8$ ufc/g respectivamente.

10 *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis*, y *Bacillus licheniformis* están combinados en 1:1:1:1:1:1:1 (M/M) para obtener gránulos bacterianos. Los gránulos se mezclan con protectores liofilizados 1:1 (M/M) y se liofilizan para obtener probióticos en polvo.

15 El método de preparación es el siguiente: Los ingredientes mencionados anteriormente se pesan y mezclan bien, y se moldean en juguetes masticables para mascotas con propiedades de cuidado bucal. Con referencia a la figura 1 para el producto de juguete masticable para mascotas de la presente invención, que incluye la vista isométrica (arriba) y la vista en sección transversal (abajo) del producto, en donde el símbolo 1 es el producto, 11 es un cuerpo principal, y 12 es un componente de cuidado dental.

20 Realización 2

El juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal de esta realización comprende un cuerpo principal con 11 probióticos, prebióticos y adhesivos.

25 El juguete masticable para mascotas está compuesto de 0.3% (M/M) de probióticos, 8% (M/M) de fructooligosacáridos, 10% (M/M) de galactooligosacáridos, 0.5% (M/M) de pegamento óseo, 20% (M/M) de tanino, 18,2% (M/M) de goma arábica, 37% (M/M) de almidón y 6% (M/M) de hueso en polvo.

30 *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Bacillus coagulans*, y *Bacillus subtilis* están combinados en 1:1:1:1:1:1 (M/M) para obtener gránulos bacterianos. Los gránulos se mezclan con protectores liofilizados 1:1 (M/M) y se liofilizan para obtener probióticos en polvo. Los recuentos de bacterias vivas son $1.0-5.0 \times 10^8$ ufc/g respectivamente.

35 El método de preparación es el siguiente: El almidón y el polvo de hueso se mezclan bien, se presionan en formas designadas como cuerpo principal; el tanino se aplica a la superficie del cuerpo principal, y luego los probióticos, prebióticos, pegamento óseo y goma arábica premezclados se aplican a la superficie del cuerpo principal para obtener el juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal. Con referencia a la figura 2 para el juguete masticable para mascotas de la presente invención, que incluye la vista isométrica (arriba) y la vista en sección transversal (abajo) del producto, en donde el símbolo 1 es el producto, 11 es un cuerpo principal y 12 es un componente de cuidado dental.

Realización 3 (Comparativa)

45 El juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal de esta realización comparativa comprende un probiótico, prebióticos y adhesivos dentro del principal.

50 El juguete masticable para mascotas está compuesto de 0.5% (M/M) de probióticos, 3% (M/M) de xilooligosacáridos, 9.5% (M/M) de alginato de sodio, 20% (M/M) de caseína, 25% (M/M) de goma laca, 35% (M/M) de almidón y 7% (M/M) de hueso en polvo.

55 *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Bacillus coagulans*, y *Bacillus licheniformis* están combinados en 1:1:1:1:1:1:1 (M/M) para obtener gránulos bacterianos. Los gránulos se mezclan con protectores liofilizados 1:1 (M/M) y se liofilizan para obtener probióticos en polvo. Los recuentos de bacterias vivas son $1.0-5.0 \times 10^8$ ufc/g respectivamente.

En donde, el método de cultivo de los probióticos es el mismo que el de la Realización 1.

60 El método de preparación es el siguiente: Los ingredientes mencionados anteriormente se pesan y mezclan adecuadamente, y se moldean en juguetes masticables para mascotas con propiedades de cuidado bucal. Con referencia a la Fig. 3 para el producto de juguete masticable para mascotas de la presente invención, que incluye la vista isométrica (arriba) y la vista en sección transversal (abajo) del producto, en donde el símbolo 11 es un cuerpo principal y 12 es un cuidado dental componente. Como se puede ver, los prebióticos y probióticos se dispersan uniformemente en el cuerpo principal.

65 Realización 4

El juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal de esta realización comprende un probiótico, prebióticos y adhesivos para el cuerpo principal.

5 El juguete masticable para mascotas se compone de 0.7% (M/M) de probióticos, 8% (M/M) de lactosucrosa, 8% (M/M) de oligosacáridos de soja, 2% (M/M) de gelatina de pescado, 20 % (M/M) de celulosa, 23.3% (M/M) de alginato de sodio, 30% (M/M) de almidón y 8% (M/M) de polvo de hueso. *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus paracasei*, *Bacillus subtilis*, y *Bacillus licheniformis* se combinan 1:1:1:1:1:1 (M/M) para obtener gránulos bacterianos. Los gránulos se mezclan con protectores liofilizados 1:1 (M/M) y se liofilizan para obtener probióticos en polvo. Los recuentos de bacterias vivas son 1.0-5.0x10⁸ ufc/g respectivamente.

En donde, el método de cultivo de los probióticos es el mismo que el de la Realización 1.

15 El método de preparación es el siguiente: El almidón y el polvo de hueso se mezclan bien, se presionan en una forma designada como cuerpo principal; el alginato de sodio se aplica a la superficie del cuerpo principal, y luego los probióticos, prebióticos, gelatina de pescado y celulosa premezclados se aplican a la superficie del cuerpo principal para obtener el juguete masticable para mascotas con las propiedades de cuidado oral. Con referencia a la Fig.4 para el producto de juguete masticable para mascotas de la presente invención, que incluye la vista isométrica (arriba) y la vista en sección transversal (abajo) del producto, en donde el símbolo 11 es un cuerpo principal y 12 es un cuidado dental componente. Como se puede ver, los prebióticos y probióticos están unidos a la superficie del cuerpo principal por la acción de los adhesivos.

Realización 5

25 El juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal de esta realización comprende un probiótico, prebióticos y adhesivos para el cuerpo principal.

30 El juguete masticable para mascotas se compone de 0.9% (M/M) de probióticos, 5% (M/M) de inulina, 2.5% (M/M) de goma arábica, 20% (M/M) de pegamento óseo, 20.6 % (M/M) de gelatina de pescado, 22% (M/M) de almidón, 9% (M/M) de hueso en polvo y 20% (M/M) de caucho.

35 *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis*, y *Bacillus licheniformis* se combinan 1:1:1:1:1:1:1 (M/M) para obtener gránulos bacterianos. Los gránulos se mezclan con protectores liofilizados 1:1 (M/M) y se liofilizan para obtener probióticos en polvo. Los recuentos de bacterias vivas son 1.0-5.0x10⁸ ufc/g respectivamente.

En donde, el método de cultivo de los probióticos es el mismo que el de la Realización 1.

40 El método de preparación es el siguiente: El almidón y el polvo de hueso se mezclan completamente, se presionan en una forma designada con el caucho para formar un cuerpo principal; la gelatina de pescado se aplica a la superficie del cuerpo principal, y luego los probióticos, prebióticos, goma arábica y pegamento óseo premezclados se aplican a la superficie del cuerpo principal para obtener el juguete masticable para mascotas con las propiedades de cuidado bucal.

Realización 6 (comparativa)

45 El juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal de esta realización comparativa comprende un probiótico, prebióticos y adhesivos para el cuerpo principal.

50 El juguete masticable para mascotas está compuesto por 2.4% (M/M) de probióticos, 7% (M/M) de isomaltooligosacáridos, 7% (M/M) de fructooligosacáridos, 7% (M/M) de pegamento de albúmina en sangre, 15% (M/M) de celulosa, 15,6% (M/M) de tanino, 32% (M/M) de almidón y 14% (M/M) de polvo de hueso.

55 *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus casei*, *Bacillus coagulans*, y *Bacillus subtilis* se combinan 1:1:1:1:1:1 (M/M) para obtener gránulos bacterianos.

Los gránulos se mezclan con protectores liofilizados 1:1 (M/M) y se liofilizan para obtener probióticos en polvo. Los recuentos de bacterias vivas son 1.0-5.0x10⁸ ufc/g respectivamente.

60 En donde, el método de cultivo de los probióticos es el mismo que el de la Realización 1.

El método de preparación es el siguiente: los ingredientes mencionados anteriormente se pesan y mezclan a fondo y se moldean en juguetes masticables para mascotas con propiedades de cuidado bucal.

Realización 7

65

El juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal de esta realización comprende un probiótico, prebióticos y adhesivos para el cuerpo principal.

5 El juguete masticable para mascotas está compuesto por 1.7% (M/M) de probióticos, 8% (M/M) de galactooligosacáridos, 4% (M/M) de tanino, 20% (M/M) de pegamento de albúmina en sangre, 20.3% (M/M) de caseína, 35% (M/M) de almidón y 11% (M/M) de hueso en polvo.

10 *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius*, *Bacillus coagulans*, y *Bacillus licheniformis* se combinan 1:1:1:1:1:1 (M/M) para obtener gránulos bacterianos. Los gránulos se mezclan con protectores liofilizados 1:1 (M/M) y se liofilizan para obtener probióticos en polvo. Los recuentos de bacterias vivas son 1.0-5.0x10⁸ ufc/g respectivamente.

En donde, el método de cultivo de los probióticos es el mismo que el de la Realización 1.

15 El método de preparación es el siguiente: el almidón y el polvo de hueso se mezclan bien, se presionan en una forma designada como cuerpo principal; la caseína se aplica a la superficie del cuerpo principal, y luego los probióticos, prebióticos, taninos y pegamento de sangre y albúmina premezclados se aplican a la superficie del cuerpo principal para obtener el juguete masticable para mascotas con las propiedades de cuidado bucal.

20 **Realización 8** (comparativa)

El juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal de esta realización comparativa comprende un probiótico, prebióticos y adhesivos para el cuerpo principal.

25 El juguete masticable para mascotas está compuesto de 2% (M/M) de probióticos, 5% (M/M) de xilooligosacáridos, 5% (M/M) de lactosucrosa, 5% (M/M) de caseína, 20% (M/M) de goma arábiga, 23% (M/M) de alginato de sodio, 28% (M/M) de almidón y 12% (M/M) de hueso en polvo.

30 *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus reuteri*, *Bacillus subtilis*, y *Bacillus licheniformis* se combinan 1:1:1:1:1:1:1 (M/M) para obtener gránulos bacterianos. Los gránulos se mezclan con protectores liofilizados 1:1 (M/M) y se liofilizan para obtener probióticos en polvo. Los recuentos de bacterias vivas son 1.0-5.0x10⁸ ufc/g respectivamente.

En donde, el método de cultivo de los probióticos es el mismo que el de la Realización 1.

35 El método de preparación es el siguiente: Los ingredientes mencionados anteriormente se pesan y mezclan a fondo y se moldean en juguetes masticables para mascotas con propiedades de cuidado bucal.

Realización 9

40 El juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal de esta realización comprende probióticos, prebióticos y adhesivos para el cuerpo principal.

45 El juguete masticable para mascotas se compone de 2.2% (M/M) de probióticos, 6% (M/M) de oligosacárido de soja, 6% (M/M) de inulina, 6% (M/M) de goma laca, 17% (M/M) de celulosa, 20% (M/M) de goma arábiga, 30% (M/M) de almidón, 13% (M/M) de polvo de hueso.

50 *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bacillus coagulans*, y *Bacillus subtilis* se combinan 1:1:1:1:1:1 (M/M) para obtener gránulos bacterianos. Los gránulos se mezclan con protectores liofilizados 1:1 (M/M) y se liofilizan para obtener probióticos en polvo. Los recuentos de bacterias vivas son 1.0-5.0x10⁸ ufc/g respectivamente.

En donde, el método de cultivo de los probióticos es el mismo que el de la Realización 1.

55 El método de preparación es el siguiente: el almidón y el polvo de hueso se mezclan bien, se presionan en una forma designada como cuerpo principal; la goma arábiga se aplica a la superficie del cuerpo principal, y luego los de probióticos, prebióticos, goma laca y celulosa premezclados se aplican a la superficie del cuerpo principal para obtener el juguete masticable para mascotas con las propiedades de cuidado bucal.

Realización 10

60 El juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal de esta realización comprende probióticos, prebióticos y adhesivos para el cuerpo principal.

65 El juguete masticable para mascotas está compuesto de 1.4% (M/M) de probióticos, 7% (M/M) de fructooligosacáridos, 3% (M/M) de celulosa, 15% (M/M) de pegamento óseo, 20% (M/M) de goma laca, 24% (M/M) de almidón, 10% (M/M) de hueso en polvo y 20% (M/M) de telas tejidas.

Bifidobacterium breve, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus coagulans*, y *Bacillus licheniformis* se combinan 1:1:1:1:1:1 (M/M) para obtener gránulos bacterianos. Los gránulos se mezclan con protectores liofilizados 1:1 (M/M) y se liofilizan para obtener probióticos en polvo. Los recuentos de bacterias vivas son 1.0-5.0x10⁸ ufc/g respectivamente.

En donde, el método de cultivo de los probióticos es el mismo que el de la Realización 1.

El método de preparación es el siguiente: El almidón y el polvo de hueso se mezclan a fondo, se presionan en una forma designada con los tejidos para formar un cuerpo principal; la goma laca se aplica a la superficie del cuerpo principal, y luego los probióticos, prebióticos, celulosa y pegamento óseo premezclados se aplican a la superficie del cuerpo principal para obtener el juguete masticable para mascotas con las propiedades de cuidado bucal.

Realización 11 (comparativa)

El juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal de esta realización comparativa comprende un probiótico, prebióticos y adhesivos para el cuerpo principal.

El juguete masticable para mascotas está compuesto por 2.6% (M/M) de probióticos, 7% (M/M) de galactooligosacáridos, 8% (M/M) de xilooligosacáridos, 8% (M/M) de tanino, 5% (M/M) de pegamento óseo, 10% (M/M) de pegamento de sangre y albúmina, 10% (M/M) de caseína, 34% (M/M) de almidón y 15% (M/M) de polvo de hueso.

Bifidobacterium breve, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius*, y *Bacillus coagulans* se combinan 1:1:1:1:1:1 (M/M) para obtener gránulos bacterianos.

Los gránulos se mezclan con protectores liofilizados 1:1 (M/M) y se liofilizan para obtener probióticos en polvo. Los recuentos de bacterias vivas son 1.0-5.0x10⁸ ufc/g respectivamente.

En donde, el método de cultivo de los probióticos es el mismo que el de la Realización 1.

El método de preparación es el siguiente: Los ingredientes mencionados anteriormente se pesan y mezclan bien, y se moldean en juguetes masticables para mascotas con propiedades de cuidado bucal.

Realización 12

El juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal de esta realización comprende probióticos, prebióticos y adhesivos para el cuerpo principal.

El juguete masticable para mascotas se compone de 3% (M/M) de probióticos, 5% (M/M) de lactosucrosa, 5% (M/M) de oligosacáridos de soja, 1 a% (M/M) de inulina, 1 a% (M/M) de gelatina de pescado, 1 a% (M/M) de celulosa, 1 a% (M/M) de goma arábiga, 17% (M/M) de alginato de sodio, 15% (M/M w) de almidón y 15% (w / w) de polvo de hueso.

Bifidobacterium adolescentis, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri*, y *Bacillus subtilis* se combinan 1:1:1:1:1:1 (M/M) para obtener gránulos bacterianos. Los gránulos se mezclan con protectores liofilizados 1:1 (M/M) y se liofilizan para obtener probióticos en polvo. Los recuentos de bacterias vivas son 1.0-5.0x10⁸ ufc/g respectivamente.

En donde, el método de cultivo de los probióticos es el mismo que el de la Realización 1.

El método de preparación es el siguiente: el almidón y el polvo de hueso se mezclan bien, se presionan en una forma designada como cuerpo principal; el alginato de sodio se aplica a la superficie del cuerpo principal y luego los probióticos, prebióticos, gelatina de pescado, celulosa y goma arábiga premezclados se aplican a la superficie del cuerpo principal para obtener el juguete masticable para mascotas con las propiedades de cuidado bucal.

Realización 13

El juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal de esta realización comprende probióticos, prebióticos y adhesivos para el cuerpo principal.

El juguete masticable para mascotas se compone de 2.8% (M/M) de probióticos, 6% (M/M) de lactosucrosa, 7% (M/M) de pegamento de albúmina en sangre, 10% (M/M) de tanino, 18.2% (M/M) de alginato de sodio, 27% (M/M) de almidón, 9% (M/M) de hueso en polvo y 20% (M/M) de un juguete para mascotas disponible comercialmente.

Bifidobacterium longum, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus*, y *Bacillus licheniformis* se combinan 1:1:1:1:1:1 (M/M) para obtener gránulos bacterianos. Los gránulos se mezclan con protectores liofilizados 1:1 (M/M) y se liofilizan para obtener probióticos en polvo. Los recuentos de bacterias vivas son $1.0-5.0 \times 10^8$ ufc/g respectivamente.

En donde, el método de cultivo de los probióticos es el mismo que el de la Realización 1.

El método de preparación es el siguiente: El almidón y el polvo de hueso se mezclan completamente, se presionan en una forma designada con el juguete para mascotas disponible comercialmente para formar un cuerpo principal; el alginato de sodio se aplica a la superficie del cuerpo principal, y luego los probióticos, prebióticos, pegamento de albúmina en sangre y tanino premezclado se aplican a la superficie del cuerpo principal para obtener el juguete masticable para mascotas con las propiedades de cuidado bucal.

Las realizaciones preferidas de la presente invención incluyen, pero no se limitan a las mencionadas anteriormente, que son ejemplos favorables, más que limitaciones a la presente invención.

Para probar el efecto de los juguetes masticables para mascotas de la presente invención en la recuperación de las enfermedades orales de una mascota, se realizaron experimentos de cultivo de cepas bacterianas y experimentos de recuperación de enfermedades periodontales en perros para verificar la eficacia de la presente invención para combatir las enfermedades periodontales.

1. Estudio sobre las propiedades antibacterianas de los probióticos.

Diluir los cultivos de los gérmenes que causan las enfermedades periodontales a 106 ufc/ml, incluyendo *Streptococcus mutan*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, and *Tannerella forsythia*, y aplicar 0.1 ml de los cultivos a una placa de peptona con extracto de carne. Colocar una taza Oxford (diámetro de 8 mm) en la placa y agregar 100 μ L de los cultivos bacterianos de las combinaciones probióticas de la Realización 1. Incubar a 37°C durante 24 horas y medir los diámetros de los anillos bacteriostáticos. Se usa solución salina estéril como grupo de control. Los resultados del experimento se enumeran en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1. Diámetro de los Anillos Bacteriostáticos (Unidad: mm)

	<i>Streptococcus mutan</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Tannerella forsythia</i>
Grupo Experimental	14.3 \pm 1.1	19.5 \pm 0.6	17.3 \pm 1.7	16.1 \pm 1.0
Grupo de control	-	-	-	-
Nota: - significa ningún efecto bacteriostático.				

Los resultados del experimento indicaron que las combinaciones de probióticos tenían el efecto de inhibir *Streptococcus mutan*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, y *Tannerella forsythia*.

2. Experimento de Cultivo en Conjunto de Cepas Bacterianas

Las combinaciones probióticas de la Realización 1 se cultivaron conjuntamente respectivamente con *Streptococcus mutan*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, and *Tannerella forsythia* en medio líquido e incubado a 37°C. Se tomaron muestras a diferentes tiempos de cultivo y se aplicó el método de recuento en placa para analizar los efectos antibacterianos de los probióticos.

Las combinaciones probióticas se cultivaron conjuntamente con *Streptococcus mutan*, y el resultado del experimento se muestra en la Fig. 5.

Se puede ver en la figura 5 que, después de que las combinaciones de probióticos cultivados conjuntamente con *Streptococcus mutan* durante 36 horas, el número de *Streptococcus mutan* se suprimió por completo. El resultado indicó que las combinaciones de probióticos tenían el efecto de inhibir el *Streptococcus mutan*.

Las combinaciones de probióticos se cultivaron conjuntamente con *Porphyromonas gingivalis*, y el resultado del experimento se muestra en la Fig. 6.

Se puede ver en la figura 6 que, después de las combinaciones de probióticos cultivados conjuntamente con *Porphyromonas gingivalis* durante 16 horas, el número de *Porphyromonas gingivalis* fue completamente suprimido. El resultado indicó que las combinaciones de probióticos tenían el efecto de inhibir el *Porphyromonas gingivalis*.

Las combinaciones de probióticos se cultivaron conjuntamente con *Fusobacterium nucleatum*, y el resultado del experimento se muestra en la Fig. 7.

Se puede ver en la figura 7 que, después de las combinaciones de probióticos cultivados conjuntamente con *Fusobacterium nucleatum* durante 16 horas, El número de *Fusobacterium nucleatum* se suprimió por completo. El resultado indicó que las combinaciones de probióticos tenían el efecto de inhibir el *Fusobacterium nucleatum*.

5 Las combinaciones de probióticos se cultivaron conjuntamente con *Tannerella forsythia*, y el resultado del experimento se muestra en la Fig. 8.

Se puede ver en la figura 8 que, después de las combinaciones de probióticos cultivados conjuntamente con *Tannerella forsythia* durante 20 horas, el número de *Tannerella forsythia* fue completamente suprimido. El resultado indicó que las combinaciones de probióticos tenían el efecto de inhibir la *Tannerella forsythia*.
10

3. Experimentos de Recuperación de Enfermedades Periodontales en Perros

Los perros de tres años que padecían enfermedades periodontales y aliento fétido fueron seleccionados como sujetos experimentales. Se establecieron ocho grupos experimentales y cada grupo adoptó tres perros sujetos experimentales.
15

Grupo Experimental 1: Los juguetes masticables para mascotas de la Realización 1 se les dieron diariamente a los perros sujetos experimentales;

20 Experimental 2: Los juguetes masticables para mascotas de la Realización 2 se les dieron diariamente a los perros sujetos experimentales;

Grupo Experimental 3: Los juguetes masticables para mascotas de la Realización 5 se les dieron diariamente a los perros sujetos experimentales;

25 Grupo Experimental 4: Los juguetes masticables para mascotas de la Realización 13 se les dieron diariamente a los perros sujetos experimentales;

30 Grupo Experimental 5: Los juguetes masticables para mascotas de la Realización 5, excluyendo los ingredientes de los probióticos, prebióticos y adhesivos, se administraron diariamente a los perros sujetos experimentales, siendo estos los que contenían almidón, polvo de huesos y caucho únicamente;

Grupo Experimental 6: Se dieron diariamente masticables para perros disponibles comercialmente hechos de pieles de cerdo a los perros sujetos experimentales;

35 Grupo Experimental 7: Se dieron diariamente masticables para perros disponibles comercialmente hechos de goma a los perros sujetos experimentales;

40 Grupo Experimental 8: Se dio diariamente alimento comercial para perros disponible comercialmente con contenido de *Lactobacillus* a los perros sujetos experimentales;

Los sujetos experimentales fueron tratados en consecuencia durante catorce días consecutivos. Se utilizaron papeles de filtro estériles de 1 cm x 1 cm para recoger aleatoriamente bacterias de tejidos periodontales de los ocho grupos antes y después del experimento, respectivamente. Los papeles de filtro se sumergieron en 1,0 ml de solución salina siguiendo una serie de diluciones de diez veces, y se aplicaron a placas de cultivo. Se aplicó el método de recuento en placa para calcular el número de colonias y las condiciones de crecimiento de bacterias en la boca de cada uno de los perros en los ocho grupos experimentales. Además, el olor al aliento de cada perro también se evaluó antes y después de cada experimento.
45

50 Las condiciones de crecimiento de las bacterias en la boca de los ocho grupos de experimentos antes y después del experimento se muestran en la figura 9.

De acuerdo con los resultados (ver Fig. 9), después de catorce días consecutivos de tratamiento, los perros de los Grupos Experimentales 1, 2, 3 y 4 mostraron una disminución significativa en el número de bacterias bucales y una mejora en los síntomas de la enfermedad periodontal mientras que los perros de los Grupos Experimentales 5, 6 y 7 no mostraron una disminución significativa en el número de bacterias bucales en la boca. Los perros del Grupo Experimental 8 mostraron un ligero aumento en el número de bacterias bucales.
55

60 El resultado indica que los juguetes masticables para mascotas de la presente invención tienen efectos significativos en la inhibición del crecimiento de bacterias en la boca de los perros.

La evaluación del olor al aliento de cada uno de los ocho grupos de experimentos antes y después del experimento se muestra en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2. Evaluación del Olor a Aliento de los Perros Antes y Después del Experimento

Hora del Experimento (día)	Grupo Experimental 1	Grupo Experimental 2	Grupo Experimental 3	Grupo Experimental 4
0	+	+	+	+
14	-	-	-	-
Hora del Experimento (día)	Grupo Experimental 5	Grupo Experimental 6	Grupo Experimental 7	Grupo Experimental 8
0	+	+	+	+
14	+	+	+	+

Nota: + significa respiración fétida, y - significa no respiración fétida.

5 Según los resultados, después de catorce días consecutivos de tratamiento, la respiración fétida para los perros en los Grupos de Experimento 1, 2, 3 y 4 desapareció, mientras que la respiración fétida para los perros en los Grupos de Experimento 5, 6, 7 y 8 permaneció sin cambios. El resultado del experimento indica que los juguetes masticables para mascotas de la presente invención tienen el efecto de mejorar significativamente el aliento fétido de los perros.

10 4. Correlación del Tiempo de Masticación y el Experimento de Colonización de Probióticos

Para estudiar el tiempo de masticación de los juguetes masticables para mascotas en correlación con los probióticos para que se adhieran y colonicen la boca de una mascota, se seleccionaron perros de tres años con una condición oral saludable como sujetos experimentales. Se establecieron ocho grupos experimentales y cada grupo estaba compuesto por tres perros sujetos experimentales.

20 Grupo Experimental 1: Los juguetes masticables para mascotas de la Realización 1 se dieron a los perros sujetos experimentales durante aproximadamente 60 segundos;

Grupo Experimental 2: Los juguetes masticables para mascotas de la Realización 1 se dieron a los perros sujetos experimentales durante aproximadamente 120 segundos;

25 Grupo Experimental 3: Los juguetes masticables para mascotas de la Realización 1 se entregaron a los perros sujetos experimentales durante aproximadamente 180 segundos;

Grupo Experimental 4: Los juguetes masticables para mascotas de la Realización 1 se dieron a los perros sujetos experimentales durante aproximadamente 240 segundos;

30 Grupo Experimental 5: Los juguetes masticables para mascotas de la Realización preferida 1, excluyendo los ingredientes de los probióticos, prebióticos y adhesivos, se administraron a los perros sujetos experimentales durante aproximadamente 180 segundos, estos juguetes masticables para mascotas contenían solo almidón y polvo de hueso;

35 Grupo Experimental 6: Se administraron masticables para perros comercialmente disponibles hechos con pieles de cerdo a los perros sujetos experimentales durante aproximadamente 180 segundos;

Grupo Experimental 7: Se administraron masticables para perros comercialmente disponibles hechos de caucho a los perros sujetos experimentales durante aproximadamente 180 segundos;

40 Grupo Experimental 8: Se administraron alimentos para perros disponibles comercialmente que contenían Lactobacillus a los perros sujetos experimentales;

45 Los objetos experimentales fueron tratados en consecuencia durante catorce días consecutivos. Se utilizaron papeles de filtro estériles de 1 cm x 1 cm para recoger aleatoriamente bacterias de tejidos periodontales de los ocho grupos antes y después del experimento, respectivamente. Los papeles de filtro se sumergieron en 1,0 ml de solución salina siguiendo una serie de diluciones de diez veces, y se aplicaron a placas de cultivo.

50 Se aplicó el método de recuento de placas para calcular el número de colonias y las condiciones de crecimiento de los probióticos en la boca de cada uno de los perros en los ocho grupos experimentales.

Las condiciones de crecimiento de los probióticos en la boca de los ocho grupos de experimentos antes y después del experimento se muestran en la Fig.10.

55 De acuerdo con los resultados (ver Fig.10), después de catorce días consecutivos de tratamiento, los perros del Grupo Experimental 1, 2, 3 y 4 mostraron una gran cantidad de probióticos detectados en la boca, aunque el número de probióticos en el Grupo de Experimento 1 no fue tanto como el Grupo de Experimento 2, 3 y 4 debido al tiempo de

5 masticación relativamente corto. Los resultados demostraron que un período de tiempo relativamente corto es suficiente para que los adhesivos prebióticos y probióticos se adhieran a las membranas bucales. Los masticables para mascotas de los Grupos de Experimento 5, 6 y 7 no contenían los probióticos, por lo que no se detectaron bacterias probióticas y no pudieron proporcionar ninguna propiedad para el cuidado bucal. La comida para perros utilizada por el Grupo Experimento 8 era comida para mascotas regular, que se consumía rápidamente y el tiempo de masticación era relativamente corto. Los probióticos no recibieron adhesivos para la adherencia y tampoco tuvieron tiempo suficiente para activarse, reproducirse o colonizarse. Por lo tanto, está claro que este tipo de alimento para mascotas no ayuda a formar la flora probiótica predominante en la boca de un perro y solo se detectaron muy pocos probióticos en la boca de los perros sometidos.

10

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar un juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal, dicho juguete masticable para mascotas que comprende un cuerpo principal, adhesivos, probióticos y prebióticos, dicho método comprende los siguientes pasos:
- 5 Medir los ingredientes del juguete masticable para mascotas.
 Aplicar una parte de adhesivo a la superficie de un cuerpo principal, y luego aplicar prebióticos, probióticos y adhesivos premezclados a la superficie del cuerpo principal para obtener un juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal;
- 10 En donde el adhesivo aplicado a la superficie del cuerpo principal es diferente del adhesivo premezclado con los probióticos y prebióticos;
 En el que el cuerpo principal comprende de al menos uno de los siguientes: tejidos, caucho, plástico, almidón, proteínas, fibras y polvo de huesos y/o es un juguete para mascotas disponible comercialmente;
- 15 En donde los adhesivos son de origen vegetal y/o animal, en donde los adhesivos de origen vegetal comprenden al menos uno de los siguientes: almidón, celulosa, tanino, goma arábiga y alginato de sodio; en donde los adhesivos de origen animal comprenden al menos uno de los siguientes: cola ósea, gelatina de pescado, cola de albúmina de sangre, caseína y goma laca.
2. El método para preparar un juguete masticable para mascotas con propiedades para el cuidado bucal según la reivindicación 1 es caracterizado porque los probióticos comprenden *Bifidobacterium* y/o *Lactobacillus* y/o *Bacillus*.
3. El método para preparar un juguete masticable para mascotas con propiedades para el cuidado bucal según la reivindicación 1 es caracterizado porque la bifidobacteria incluye al menos uno de *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium adolescentis* y *Bifidobacterium longum*; En el que el lactobacilo incluye al menos uno de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, y *Lactobacillus salivarius*; donde el bacilo incluye al menos uno de *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*.
- 30 4. El método para preparar un juguete masticable para mascotas con propiedades para el cuidado oral de acuerdo con la reivindicación 1 es caracterizado porque los prebióticos comprenden oligosacáridos funcionales, en donde los oligosacáridos funcionales comprenden al menos uno de los isomaltooligosacáridos, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, xilooligosacáridos, lactosucrosa, oligosacáridos de soja y oligosacáridos de soja.
- 35 5. El método para preparar un juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal según la reivindicación 1 es caracterizado por: Medir los ingredientes del juguete masticable para mascotas, mezclar los ingredientes excepto los probióticos, los prebióticos y el adhesivo, presionar/moldear en una forma designada como cuerpo principal, aplicando una parte de adhesivo a la superficie del cuerpo principal, y luego aplicando prebióticos, probióticos y adhesivo premezclados a la superficie del cuerpo principal para obtener un juguete masticable para mascotas con propiedades de cuidado bucal.
- 40

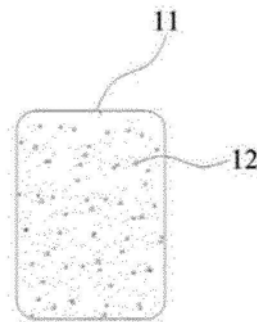
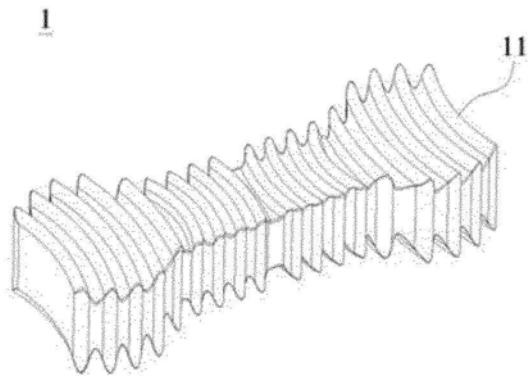


Fig.1

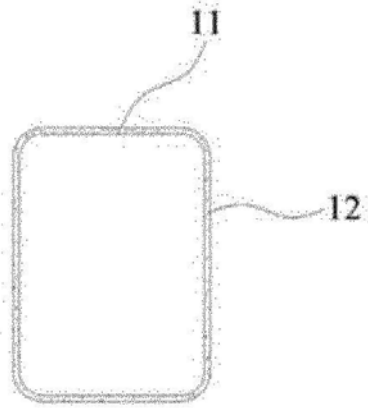
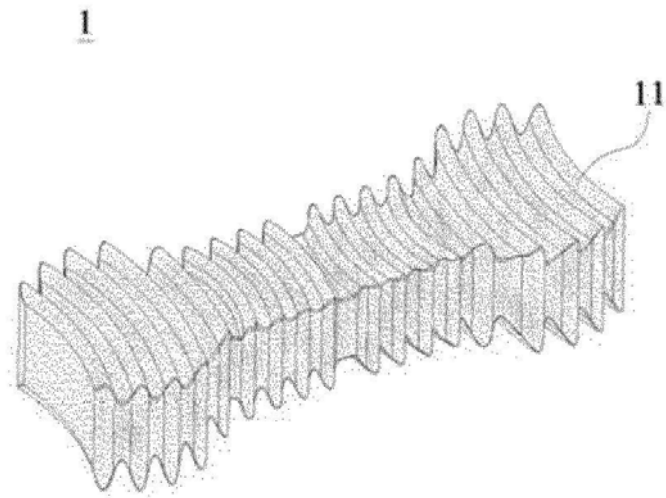


Fig.2

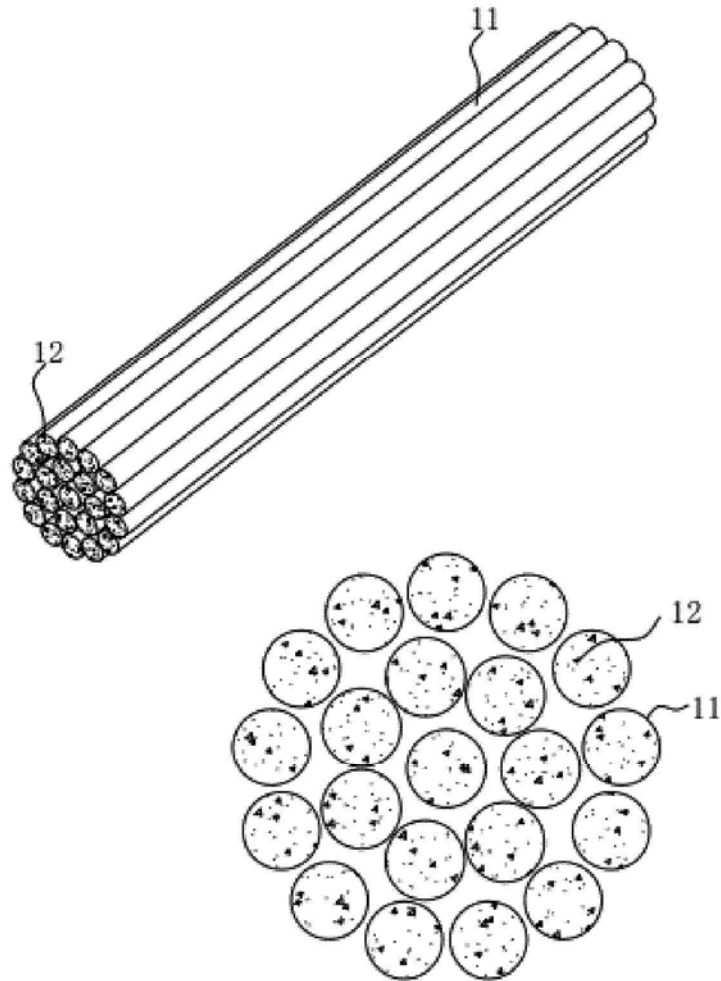


Fig.3

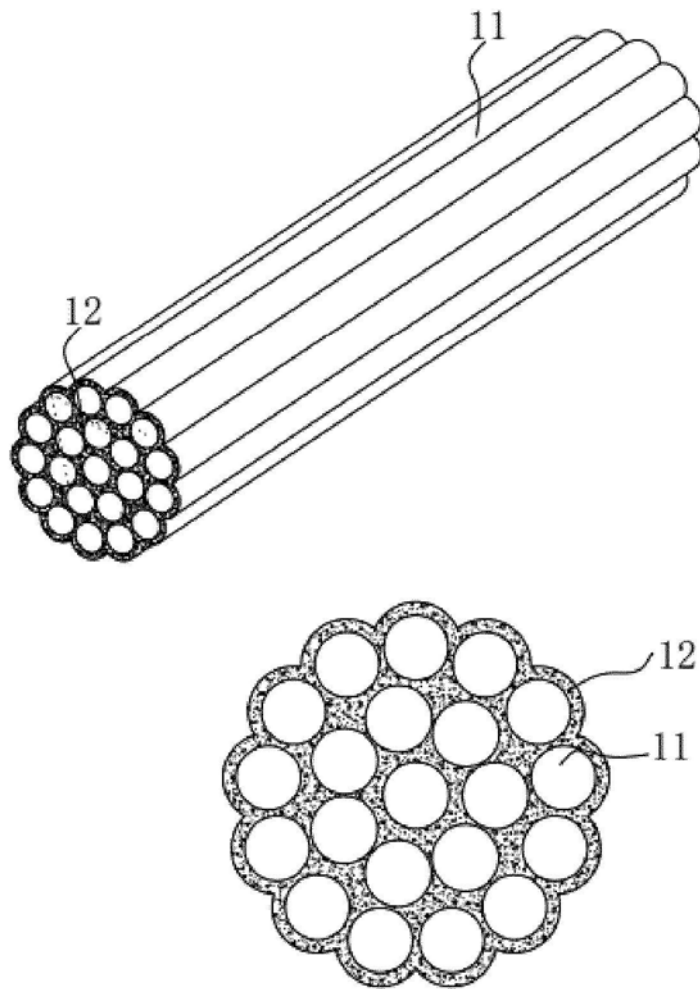


Fig.4

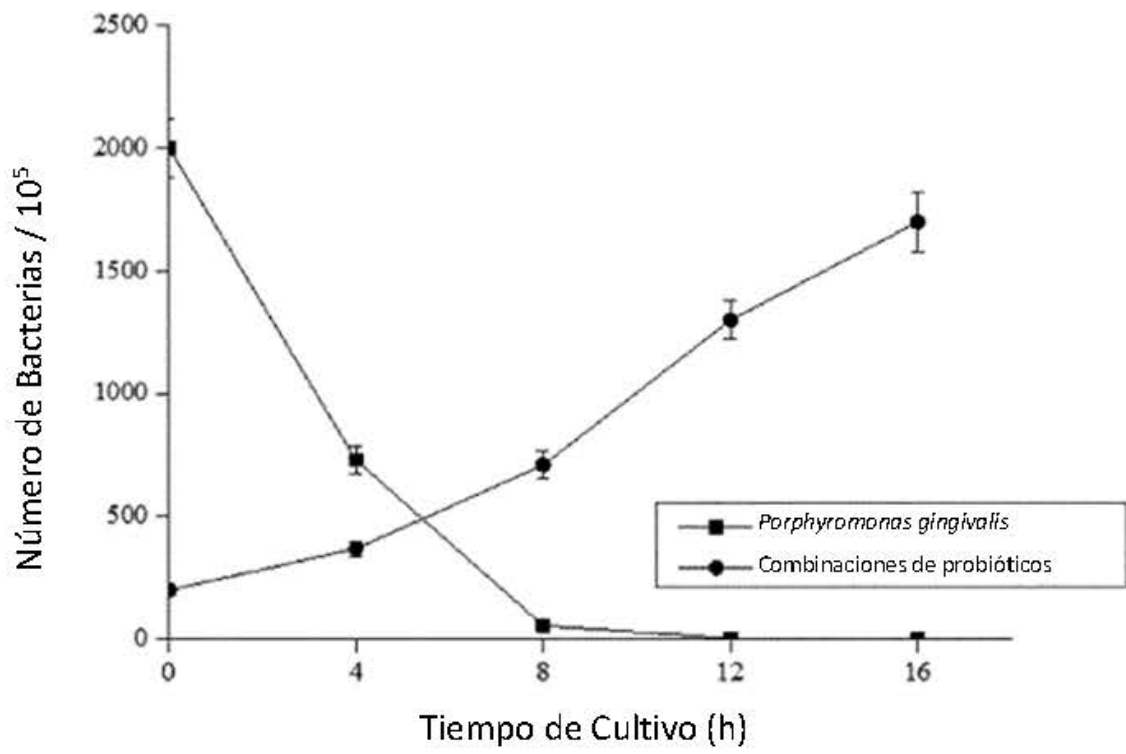


Fig. 6

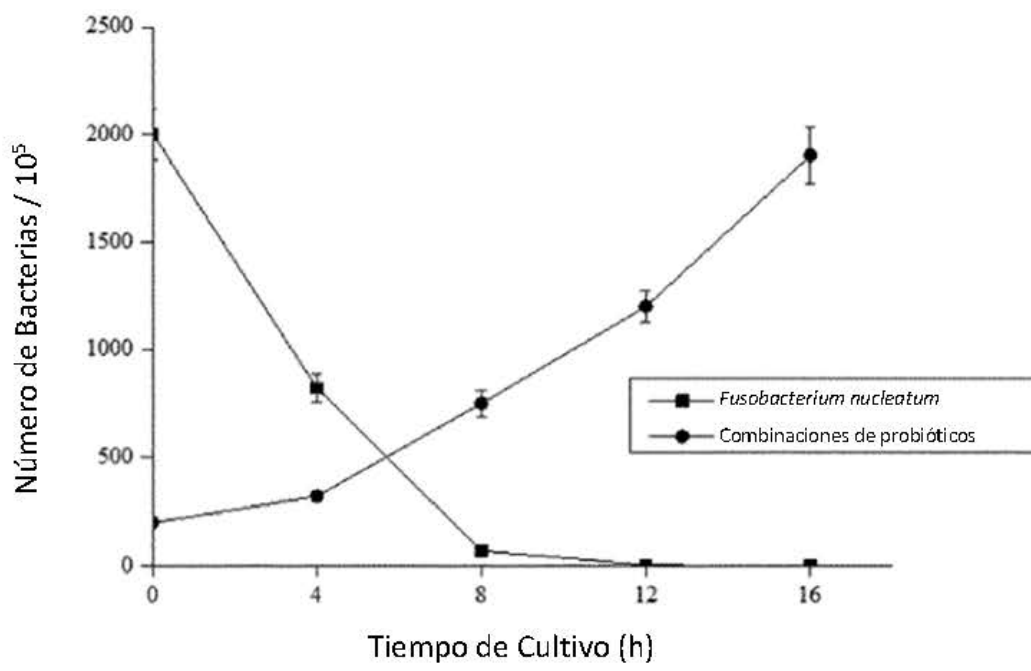


Fig. 7

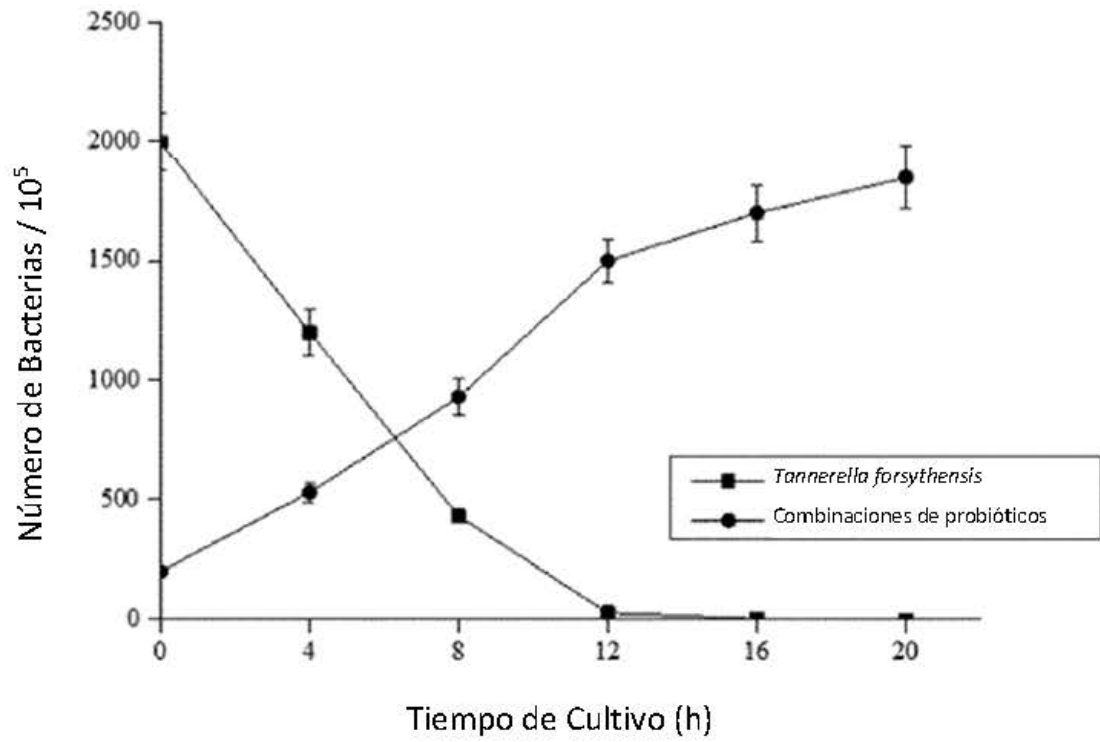


Fig. 8

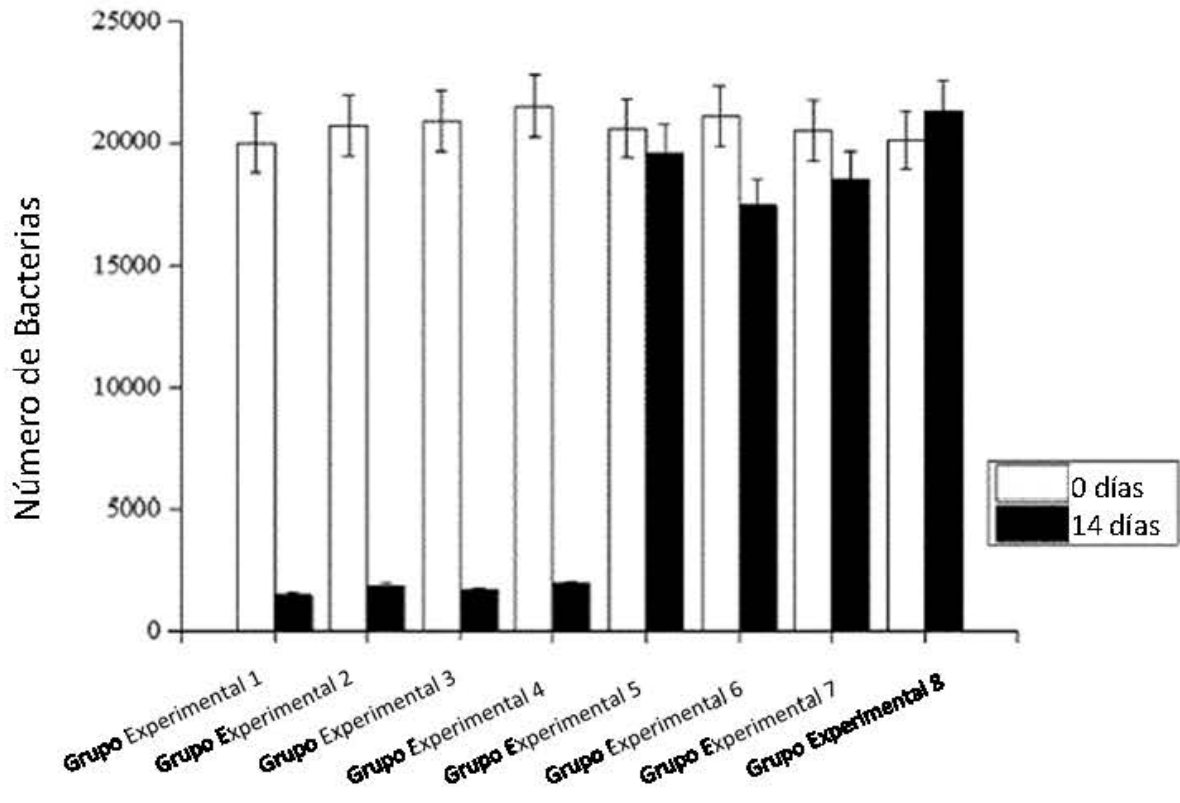


Fig. 9

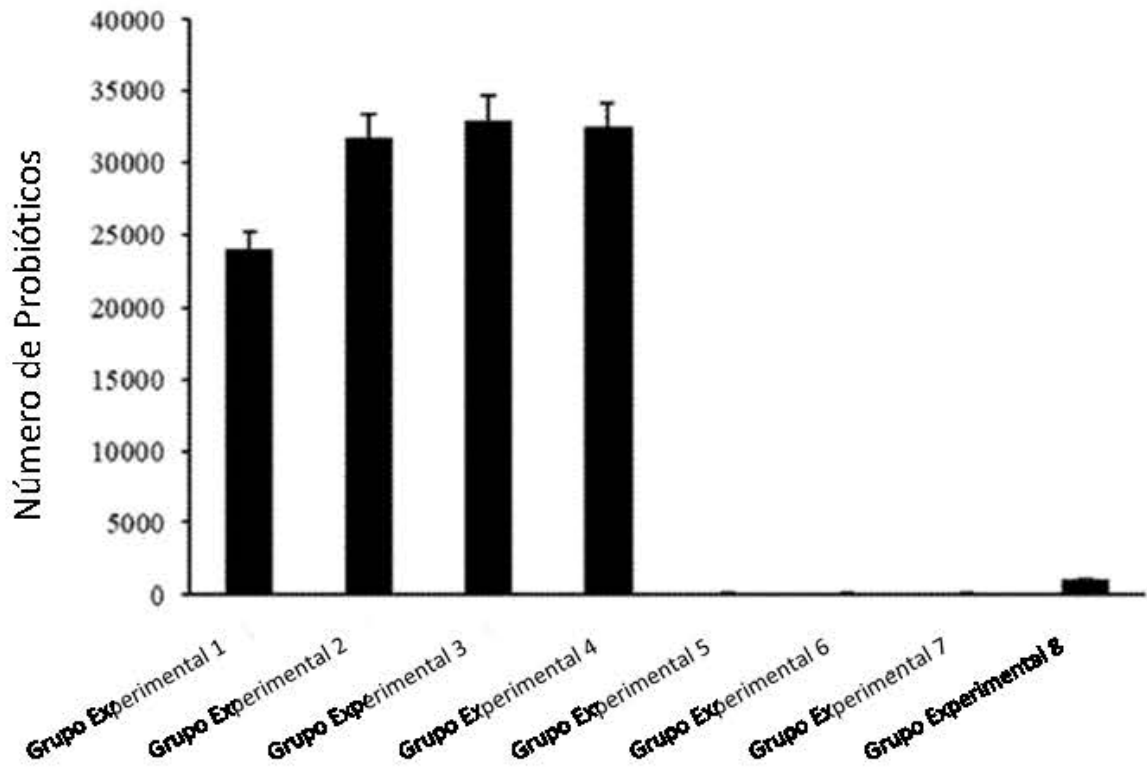


Fig. 10