



HAL
open science

Composition pour l'alimentation des lapins

Laurence Lamothe, Benoist Schaal, Gérard Coureaud, D. Langlois, . Inra

► **To cite this version:**

Laurence Lamothe, Benoist Schaal, Gérard Coureaud, D. Langlois, . Inra. Composition pour l'alimentation des lapins. N° de brevet: FR2821243 - 2002-08-30 (BOPI 2002-35). 2001, 34 p. hal-02831298

HAL Id: hal-02831298

<https://hal.inrae.fr/hal-02831298>

Submitted on 7 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication : **2 821 243**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②① N° d'enregistrement national : **01 02752**

⑤① Int Cl⁷ : A 23 K 1/18

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 28.02.01.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 30.08.02 Bulletin 02/35.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥⑥ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : INSTITUT NATIONAL DE LA
RECHERCHE AGRONOMIQUE INRA — FR et CEN-
TRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
CNRS — FR.

⑦② Inventeur(s) : LAMOTHE LAURENCE, SCHAAL
BENOIST, COUREAUD GERARD et LANGLOIS
DOMINIQUE.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : CABINET LAVOIX.

⑤④ COMPOSITION POUR L'ALIMENTATION DES LAPINS.

⑤⑦ Cette invention concerne une composition pour l'alimentation des lapins comprenant une base formée d'un aliment liquide ou solide et de 10^{-9} à 10^{-4} g de composé de formule générale (I), par gramme de composition totale.

FR 2 821 243 - A1



L'invention concerne une nouvelle phéromone, plus précisément une phéromone mammaire émise par le lapin femelle allaitant, ainsi que ses applications dans l'alimentation des lapins.

5 Le succès de la reproduction des mammifères dépend de manière ultime de la co-évolution de l'émission de signaux par la femelle et de leur réception par sa progéniture. Cette réciprocité fonctionnelle est un préalable vital pour la survie et le développement normal des nouveau-
10 nés. Elle est particulièrement bien illustrée par les échanges intenses sur lesquels se fondent l'offre de lait par la mère et la quête de lait par le jeune. Bien que les mammifères femelles soient engagées à des degrés variables selon les espèces dans les soins aux jeunes, elles ont toutes élaboré des mécanismes passifs de signalisation qui servent à la fois d'incitation et de guide pour que le nouveau-né inexpérimenté réussisse à
15 atteindre la tétine ou la mamelle.

Parmi ces signaux sensoriels, les odeurs maternelles ont souvent été évoquées, mais l'identité chimique et la nature phéromonale de ces signaux n'ont jamais été caractérisées précisément jusqu'à ce jour.

20 Les travaux réalisés par les auteurs de la présente invention ont permis d'élucider la nature chimique du signal émis par la lapine et de déterminer que ce signal provoquait une activation des lapereaux, une attraction vers la mamelle, suivie par la saisie orale de la tétine par les lapereaux.

25 Ce composé émis par la lapine allaitante ayant valeur de signal pour le lapereau nouveau-né est le 2-méthyl-but-2-éнал.

30 La présente invention constitue la première caractérisation chimique et comportementale d'une phéromone d'origine mammaire chez le mammifère.

35 Chez le lapin domestique, *Oryctolagus cuniculus*, la mortalité néonatale est élevée et due à des causes imputables à la mère et au jeune. Le succès des premières tétées est critique pour la survie du nouveau-né, ceci tout particulièrement du fait du caractère parcimonieux de la relation mère-jeunes, notamment du fait que les lapereaux nouveau-

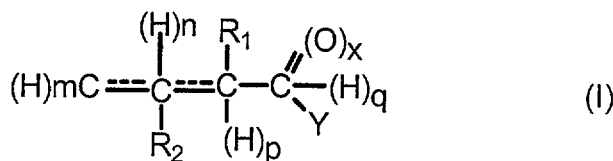
nés reçoivent leur ration lactée journalière en une tétée unique de 3 à 4 minutes.

Bien que les lapereaux nouveau-nés puissent faire face pendant 24 heures à une absence de prise de lait, leur survie à court terme dépend de leur capacité à atteindre rapidement la mamelle lors de la tétée suivante.

L'identification d'une substance ayant une activité de phéromone mammaire a donc des applications particulièrement intéressantes dans la mesure où elle permet d'intervenir sur l'ingestion de nourriture par le lapereau ou le jeune lapin, soit en étant incorporée dans l'alimentation de la lapine allaitante de façon à être excrétée dans le lait en une quantité plus importante que la quantité basale, soit en étant incorporée directement dans l'alimentation du jeune lapereau.

En outre, les travaux des inventeurs ont montré que certains composés dérivés du 2-méthyl-but-2-éнал pourraient posséder l'aptitude à activer les lapereaux.

L'invention a ainsi pour objet une composition pour l'alimentation du lapin caractérisée en ce qu'elle comprend une base formée d'un aliment liquide ou solide compatible avec l'alimentation du lapin et de 10^{-9} à 10^{-4} g/gramme de composition totale d'un composé de formule (I) :



dans laquelle :

- l'un de R_1 et R_2 représente un atome d'hydrogène, et l'autre représente un groupe alkyle en $\text{C}_1\text{-C}_4$;

- la ligne pointillée représente la possibilité d'une double liaison, le cas échéant en position 2 ou 3 ;

- Y représente H ou le groupe OR_3 , R_3 représentant H, un groupe alkyle en $\text{C}_1\text{-C}_4$ ou un groupe acyle en $\text{C}_1\text{-C}_4$;

- x représente 0 ou 1 ;

- m représente 2 lorsqu'une double liaison est présente en position 3 et 3 dans les autres cas ;

- n représente 1 lorsque aucune double liaison n'est présente et 0 lorsqu'une double liaison est présente en position 2 ou 3 ;

5 - p représente 0 lorsqu'une double liaison est présente en position 2 et 1 lorsque aucune double liaison n'est présente en position 2 ;

- q représente 0 lorsque x représente 1 et 2 lorsque x représente 0 ;

10 ainsi que les tautomères et sels d'addition de bases acceptables sur le plan alimentaire lorsque Y représente OR_3 et R_3 est H.

Les valences libres sur la formule (I) correspondent à un atome d'hydrogène.

De même, lorsque x est égal à 0, l'atome de carbone le plus à droite sur la formule (I) comporte deux atomes d'hydrogène.

15 De manière préférée, la ligne pointillée représente une double liaison en position 2.

Toutefois les composés de formule (I) dans lesquels la ligne pointillée représente une double liaison en position 3 ou ne comprenant pas de double liaison, c'est-à-dire dérivés du butanal, du butanol ou de l'acide butanoïque, présentent également une activité de type phéromone mammaire à un degré moindre.

20 Avantageusement, l'un de R_1 et R_2 représente un groupe alkyle en C_1 - C_4 , de préférence méthyle ou éthyle, et l'autre représente l'atome d'hydrogène.

25 Les composés dans lesquels R_1 représente méthyle ou éthyle et R_2 représente un atome d'hydrogène sont toutefois préférés.

Un autre groupe de composés préférés est celui dans lequel x représente 1 et Y un atome d'hydrogène, c'est-à-dire de manière générale les aldéhydes.

30 Des composés préférés dans le cadre de l'invention sont représentés dans le tableau I ci-après.

Tableau I

	R ₁	R ₂	Y	x	Position double
acide 2-méthyl-butanoïque	Me	H	OH	1	non
2-méthyl-butanoate de méthyle	Me	H	OMe	1	non
2-méthyl-butanoate d'éthyle	Me	H	OEt	1	non
2-méthyl-butanal	Me	H	H	1	non
2-méthyl-butan-1-ol	Me	H	OH	0	non
acétate de 2-méthyl-butan-1-ol	Me	H	OAc	0	non
acide 2-méthyl-but-3-énoïque	Me	H	OH	1	3
2-méthyl-but-3-énoate de méthyle	Me	H	OMe	1	3
2-méthyl-but-3-énoate d'éthyle	Me	H	OEt	1	3
2-méthyl-but-3-énal	Me	H	H	1	3
2-méthyl-but-3-én-1-ol	Me	H	OH	0	3
acétate de 2-méthyl-but-3-én-1-ol	Me	H	OAc	0	3
acide 2-méthyl-but-2-énoïque	Me	H	OH	1	2
2-méthyl-but-2-énoate de méthyle	Me	H	OMe	1	2
2-méthyl-but-2-énoate d'éthyle	Me	H	OEt	1	2
2-méthyl-but-2-énal	Me	H	H	1	2
2-méthyl-but-2-én-1-ol	Me	H	OH	0	2
acétate de 2-méthyl-but-2-én-1-ol	Me	H	OAc	0	2
Acide 3-méthyl-but-2-énoïque	H	Me	OH	1	2
3-méthyl-but-2-énoate de méthyle	H	Me	OMe	1	2
3-méthyl-but-2-énoate d'éthyle	H	Me	OEt	1	2
3-méthyl-but-2-énal	H	Me	H	1	2
3-méthyl-but-2-én-1-ol	H	Me	OH	0	2
acétate de 3-méthyl-but-2-én-1-ol	H	Me	OAc	0	2
Acide 2-éthyl-butanoïque	Et	H	OH	1	non
2-éthyl-butanoate de méthyle	Et	H	OMe	1	non
2-éthyl-butanoate d'éthyle	Et	H	OEt	1	non
2-éthyl-butanal	Et	H	H	1	non
2-éthyl-butan-1-ol	Et	H	OH	0	non
acétate de 2-éthyl-butan-1-ol	Et	H	OAc	0	non

5 Par « lapin » au sens de la présente invention, on entend les espèces appartenant au genre *Oryctolagus*, tout particulièrement le lapin

domestique *Oryctolagus cuniculus*, ou tout autre membre de la famille des *Leporidae*.

Selon un premier mode de réalisation, la composition alimentaire est sous forme solide, et comprend avantageusement un mélange de matières premières d'origine essentiellement végétale. Ce mélange est avantageusement obtenu par traitement de graines de céréales (maïs, blé, orge ou leurs sous-produits), par traitement de racines ou de tubercules (betteraves, manioc), de graminées ou autres plantes fourragères vivaces (luzerne), ou encore par traitement de graines ou de fruits oléagineux ou protéagineux (grains entiers, tourteaux et autres sous-produits : soja, tournesol, colza, pépins de raisin, pois, féverole).

De manière générale, la base alimentaire est riche en glucides, notamment en amidon ou ses dérivés, fibres végétales digestibles et indigestibles, protéines végétales et lipides.

Avantageusement, la composition est sous forme de granulés.

Le composé de formule générale (I) peut être dans ce cas incorporé dans le granulé ou adsorbé à la surface de celui-ci.

Lorsqu'un composé de formule générale (I) est incorporé dans le granulé, il est généralement ajouté dans un véhicule organique ou minéral à une matière première alimentaire, généralement une farine obtenue à partir d'un mélange de matières premières d'origine végétale diverse (blé et ses dérivés, orge, maïs, pulpes de betteraves, luzerne, tourteau de tournesol et de soja), contenant des vitamines et oligo-éléments, puis après mélange, soumis à une granulation dans des conditions classiques de granulation, de préférence à l'aide d'une presse à granulés.

En variante, le composé de formule générale (I) peut être adsorbé à la surface des granulés par tout moyen connu, notamment par pulvérisation.

Les granulés peuvent être destinés à l'alimentation des lapines allaitantes ou des jeunes lapereaux après leur sevrage.

Dans le premier cas, ils contiennent avantageusement le composé de formule générale (I) en une concentration comprise entre 10^{-9} et 10^{-4} g par gramme de composition totale de façon à libérer le composé de formule générale (I) excrété dans les sécrétions cutanées de la lapine

en une quantité supérieure à la quantité basale, et favoriser l'attraction des lapereaux nouveau-nés vers la mamelle maternelle.

Dans le second cas, la composition sous forme de granulés contient avantageusement le composé de formule générale (I) en une concentration comprise entre 10^{-9} et 10^{-4} g par gramme de composition totale et est destinée à être directement ingérée par le jeune lapereau, la présence du composé de formule générale (I) favorisant soit l'attirance du jeune lapereau vers la nourriture et donc la quantité de nourriture ingérée et la croissance, soit la santé du jeune lapereau.

Par « jeune lapereau », on entend un lapin âgé d'environ 10 jours à 13 semaines.

Dans ce cas, l'incorporation du composé de formule générale (I) dans la nourriture du lapereau permet soit d'augmenter la quantité de nourriture ingérée grâce aux signaux émis par le composé de formule générale (I) en direction de l'odorat du jeune lapereau, et donc favorisera sa croissance, ou améliorera sa santé.

Dans un second mode de réalisation de l'invention, la composition pour l'alimentation du lapin est sous forme liquide.

La composition peut être notamment sous la forme d'une eau de boisson pour lapines reproductrices et comprendre de 10^{-9} g/ml à 10^{-4} g/ml du composé de formule générale (I) en solution dans l'eau.

La composition peut également consister en une eau destinée à être absorbée par le jeune lapereau et contenir de 10^{-9} g/ml à 10^{-4} g/ml du composé de formule générale (I) en solution dans l'eau.

La composition liquide contient avantageusement un agent émulsifiant ou un co-solvant compatible avec l'alimentation du lapin.

En variante, la composition liquide peut être sous la forme d'un lait artificiel ou reconstitué destiné à l'alimentation du jeune lapin avant sevrage et dont la composition diffère de celle du lait de lapin.

Dans ce cas, le composé de formule générale (I) est présent en une quantité comprise entre 10^{-9} g/ml et 10^{-4} g/ml de lait.

Par « lait artificiel », on entend soit du lait de lapine stérilisé dont la composition diffère du lait en ce qu'elle ne comprend pas de germes (pathogènes ou non), soit un lait reconstitué à partir de dérivés du lait de vache dilués pour obtenir un liquide dont la composition en macro-

nutriments avoisine la composition du lait de lapine. Le lait artificiel ainsi obtenu est plus riche en lactose que le lait de lapine.

De manière générale, les aliments, qu'ils soient sous forme liquide ou solide, destinés aux lapins, en particulier aux femelles reproductrices et jeunes lapereaux, contiennent généralement des vitamines, des minéraux ajoutés (c'est-à-dire en plus de ceux contenus naturellement dans les matières premières), des arômes alimentaires et parfois des médicaments, notamment des antibiotiques, anticoccidiens ou autres.

L'invention a en outre pour objet l'utilisation du 2-méthyl-but-2-éнал comme additif alimentaire pour l'alimentation des lapins, notamment l'alimentation des lapines reproductrices et l'alimentation des lapereaux nouveau-nés âgés de 1 à 10 jours ou des jeunes lapereaux âgés de 10 jours à 13 semaines.

L'invention a également pour objet un procédé destiné à augmenter l'ingestion d'aliment par le jeune lapin, caractérisé en ce qu'il consiste à incorporer à une composition alimentaire pour jeunes lapins ou femelles reproductrices de 10^{-9} g à 10^{-4} g/g de composition alimentaire totale d'un composé de formule générale (I).

Les exemples qui suivent sont destinés à illustrer l'invention.

Pour la bonne compréhension de ces exemples, on se référera aux figures annexées sur lesquelles :

- la figure 1 représente la séquence de réponses d'un lapereau nouveau-né recherchant et saisissant un entonnoir de verre émettant le 2-méthyl-but-2-éнал ;

- la figure 2 représente le profil en chromatographie en phase gazeuse de la fraction volatile du lait et les réponses olfactométriques cumulatives des lapereaux associés à la chromatographie en phase gazeuse.

En abscisse, figurent les temps de rétention et en ordonnée figurent respectivement le nombre de réponses olfactométriques (bas de

la figure) et l'intensité du signal du détecteur à ionisation de flamme (partie supérieure de la figure).

5 - La figure 3 représente un diagramme illustrant la fréquence des réponses de recherche/saisie du bâtonnet de verre imprégné avec chacun des 22 composés réactogènes identifiés dans le lait, chez des lapereaux nouveau-nés ;

10 - la figure 4 représente les profils de bioactivité sélective du 2-méthyl-but-2-éanal testé contre (A) : des diluants, (B) : des composés volatils non identifiés dans le lait de lapin, (C) : des composés volatils non présents dans le lait de lapin mais antérieurement identifiés dans les sécrétions exocrines de lapin et (D) des composés volatils retrouvés ni dans le lait ni dans les sécrétions glandulaires de lapins ;

15 - la figure 5 représente le diagramme des fréquences des réponses recherche/saisie du bâtonnet de verre imprégné avec le 2-méthyl-but-2-éanal pour des lapereaux de différentes souches (A) et races (B) ;

20 - la figure 6 représente des histogrammes montrant la consommation de granulés par des lapereaux avant et après le sevrage (figure 6A), l'évolution du poids des lapereaux avant et après le sevrage (figure 6B) et la mortalité des lapereaux après le sevrage (figure 6C) pour des lapereaux ayant été alimentés avec un aliment standard, ayant reçu ou non du 2-méthyl-but-2-éanal en pulvérisation.

25 **Exemple 1 : Identification d'une phéromone dans la fraction volatile de lait de lapine.**

30 Du lait de lapine (30 g) a été versé dans une fiole immergée dans un bain-marie à 40°C. Un courant d'azote a été passé pendant deux heures dans l'échantillon à travers un verre micro-poreux à un débit de 100 ml par minute et dirigé vers un piège Tenax (TA, 20-35 mesh, préconditionné dans un flux de gaz inerte pendant 10 x 20 minutes à 240°C). Le piège a ensuite été purgé avec un flux d'azote sec (100 ml/minute) pendant deux minutes pour éliminer l'humidité résiduelle.

35 Il a été directement connecté à un injecteur Chrompack TCP-cp-40-10 (Middlebourg, Pays Bas) placé sur un chromatographe en phase gazeuse HP 4890 (Hewlett-Packard, Palo Alto, Californie) et purgé dans la

direction inverse à celle employée pendant l'adsorption. Les substances volatiles sont désorbées par chauffage du Tenax et ensuite condensées dans un tube capillaire refroidi à l'azote liquide (- 130°C) placé avant une colonne chromatographique C 20 M (30 m, 0,5 µ, 0,32 mm J and W Scientific, Folsom Californie).

La réfrigération a été arrêtée, la partie du tube capillaire a été chauffée à 250°C pendant une courte période, et la colonne de chromatographie balayée avec de l'hydrogène en tant que gaz vecteur (vitesse 50 cm/sec) suivant un gradient de température. La moitié du gaz comportant la fraction volatile obtenue à la sortie de la colonne de chromatographie a été dérivée vers un orifice équipé d'un tube en cuivre isolé (longueur : 20 cm, diamètre : 3 mm) fixé sur la colonne de chromatographie, ayant un entonnoir en verre inséré à son extrémité distale. Des dispositifs similaires couplant une chromatographie en phase gazeuse et un olfactomètre sont utilisés couramment pour la caractérisation d'arômes alimentaires par le nez humain (Guichard et al), la détermination de phéromone chez les insectes (Hummel et al) et dans un cas pour identifier les produits odorifères influençant les échanges sociaux chez le lapin adulte (Goodrich et al). Ici, l'activité biologique des fractions odorantes contenue dans l'effluent de la chromatographie en phase gazeuse a été suivie par la réponse des lapereaux (figure 1).

25 analyses couplant la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et une mesure olfactométrique (OM) (CPG/OM) ont été conduites sur la fraction volatile de lait obtenu à partir de 25 lapines. Les lapereaux étaient maintenus de façon à ce que leur museau soit à une distance de 5 mm de l'orifice décrit ci-dessus ; la durée totale de l'essai était de 35 minutes. Les lapereaux âgés de 2 à 4 jours n'avaient pas été nourris pendant 20 à 24 heures.

Les critères comportementaux suivants ont été considérés comme représentant des réponses positives :

- a) les mouvements de recherche en direction de l'entonnoir de verre de l'effluent de CPG ; et
- b) les tentatives de saisie orale de celui-ci.

La fréquence cumulative des deux réponses a permis de déterminer 22 régions actives sur les profils chromatographiques (figure 2). Les composés actifs correspondants aux pics situés dans ces régions

ont été identifiés par spectrométrie de masse à partir de la fraction volatile du lait de lapines. Les composés identifiés ont été systématiquement criblés pour leur activité comportementale sur des lapereaux âgés de 2 à 4 jours (utilisation de composés purs).

5 L'essai a consisté à présenter à des lapereaux maintenus immobilisés à la main, des bâtonnets de verre sur lesquels étaient disposés 30 µl de chaque composé à une dilution de 10^{-6} g/ml dans un solvant eau/éthanol (1000:1).

10 Un seul composé : le 2-méthyl-but-2-éanal permettait d'obtenir un taux considérablement plus élevé des deux types de réponse que tous les autres composés volatils identifiés dans le lait pour leur activité présumée (fig. 3).

Des essais supplémentaires ont été conduits pour confirmer que le 2-méthyl-but-2-éanal était un composé clé de la fraction volatile du lait de lapine :

15 - en utilisant le bâtonnet de verre décrit ci-dessus, l'étude de l'activité comportementale de toutes les impuretés détectables présentes en même temps que le 2-méthyl-but-2-éanal n'a pas indiqué d'activité ou n'a indiqué qu'une activité négligeable ;

20 - lorsque le 2-méthyl-but-2-éanal était élué par CPG à l'aide d'une colonne capillaire polaire, le moment des réponses de recherche/saisie par les lapereaux coïncidait avec le temps de rétention du 2-méthyl-but-2-éanal ;

25 - la séparation différentielle d'une colonne apolaire a été utilisée pour l'étude des composés éventuellement co-élués avec le pic du 2-méthyl-but-2-éanal et a montré que le moment de la réponse de recherche/saisie coïncidait avec le temps de rétention du 2-méthyl-but-2-éanal.

30 Les résultats de ces essais CPG/OM confirment ainsi clairement que le 2-méthyl-but-2-éanal représente le composé volatil présent dans le lait de lapine qui est à l'origine des réponses stéréotypées de recherche et de saisie de la mamelle chez le lapereau.

Exemple 2 : Corrélation de la concentration en 2-méthyl-but-2-éanal dans le lait avec les réponses de recherche/saisie chez les lapereaux.

5 Un autre moyen d'établir l'impact fonctionnel du 2-méthyl-but-2-éanal dans le lait est de corrélérer sa concentration avec la fréquence de réponse des lapereaux.

10 Une expérimentation précédente avait montré que le lait de lapin perdait son efficacité à déclencher une réponse de recherche et saisie chez le lapereau après une période de repos de 60 minutes à température ambiante.

15 Par conséquent, si le 2-méthyl-but-2-éanal est le composé clé de la fraction volatile de lait entier, la perte d'activité de ce dernier permettrait de prédire une diminution de la concentration de 2-méthyl-but-2-éanal. Cette hypothèse a été vérifiée par la titration du 2-méthyl-but-2-éanal dans des laits entre 30 et 90 minutes après la traite : la diminution quantitative du 2-méthyl-but-2-éanal dans ce lait est clairement associée à une chute importante des réponses de recherche/saisie chez les lapereaux nouveau-nés. En outre, l'activité comportementale de lait inactivé par une extraction de la fraction volatile pendant deux heures est rétablie par addition d'une solution diluée du 2-méthyl-but-2-éanal sous forme pure. Ces résultats montrent que le 2-méthyl-but-2-éanal est le composé clé impliqué dans l'efficacité comportementale du lait fraîchement récolté de lapine.

25 **Exemple 3 : Détermination de la dose efficace du 2-méthyl-but-2-éanal.**

30 L'intervalle des concentrations efficaces de 2-méthyl-but-2-éanal a été analysé en exposant des lapereaux âgés de 2 à 5 jours à l'extrémité d'un bâtonnet de verre trempé dans une solution aqueuse de 2-méthyl-but-2-éanal. A des concentrations supérieures à 10^{-3} g/ml l'efficacité de 2-méthyl-but-2-éanal diminue de façon drastique. La concentration efficace minimale de 2-méthyl-but-2-éanal se situe entre 10^{-8} et 10^{-9} g/ml.

Exemple 4 : Détermination des propriétés de phéromone du 2-méthyl-but-2-éanal.

5 Une série d'essais a été réalisée de façon à vérifier étape par étape que le 2-méthyl-but-2-éanal possédait bien les propriétés biologiques lui conférant la qualification de phéromone.

Selon une définition restrictive et opérationnelle (Beauchamp et al), peut être considéré comme phéromone tout composé (ou mélange de composés) chimiquement simple émis par un individu qui induit une
10 réponse endocrine ou comportementale précise chez un individu récepteur de la même espèce ; ces réponses doivent avoir une signification fonctionnelle claire, avoir une forme invariable dans des contextes variables, et être influencées de façon minimale par l'apprentissage postnatal. Une condition additionnelle est que ces
15 réponses doivent être provoquées par le composé cible (ou mélange de composés) et non pas par des mécanismes alternatifs impliquant des systèmes non chimio-sensoriels, une excitation non spécifique ou des effets liés à la nouveauté.

Dans le cadre de la présente invention, les cinq critères de
20 base suivants ont été utilisés pour établir que le 2-méthyl-but-2-éanal peut être qualifié de phéromone :

- 1) la simplicité chimique du stimulus ;
- 2) une réponse non ambiguë et invariable ;
- 3) une sélectivité élevée du couplage réponse/stimulus ;
- 25 4) un spécificité d'espèces au niveau de la réception ;
- 5) un couplage stimulus/réponse inconditionnel.

Un sixième critère relatif à la spécificité d'espèce de l'émission de l'odeur du signal odorant a été ajouté.

Le 2-méthyl-but-2-éanal sous forme pure provoquait une
30 réponse comportementale stéréotypée clairement définie chez les animaux nouveau-nés, laquelle n'était pas différenciable de façon immédiate de la réponse suscitée par du lait de lapine. Ainsi, un extrait de lait provoque le même effet comportemental que le lait total dont la fraction volatile est composée de plus de 150 composés. En outre, cette réponse
35 n'était pas influencée par le mode et le contexte général de présentation, dans la mesure où une activation et une réponse de recherche/saisie

étaient obtenues dans le test du bâtonnet de verre, et dans l'essai CPG/OM (figure 1).

La bioactivité sélective de 2-méthyl-but-2-éanal a été testée en outre pour un grand nombre de produits odorants supplémentaires :

- 5 a) des diluants ;
- b) d'autres produits volatils non identifiés dans le lait de lapine ;
- c) d'autres produits volatils non présents dans le lait de lapine mais identifiés antérieurement dans les sécrétions exocrines de
10 lapin ;
- d) des composés volatiles qui n'ont été retrouvés ni dans le lait ni dans les sécrétions des glandes de lapins.

Alors que tous ces stimuli étaient détectés (confirmés par des flairages), leur efficacité à provoquer la séquence recherche/saisie
15 était soit nulle, soit significativement inférieure à celle de 2-méthyl-but-2-éanal (figure 4). Ainsi, la réponse au 2-méthyl-but-2-éanal ne peut pas être attribuée à une excitation non spécifique ou à des effets de nouveauté qui seraient suscités par tout produit odorant.

En outre, dans la mesure où les lapereaux ne sont réactifs ni
20 à des stimuli auditifs ni à des stimuli visuels jusqu'aux jours 7 et 9 à 10 respectivement, l'implication de ces sens peut être complètement éliminée en tant que cause de la réponse de recherche/saisie. En outre, malgré des aptitudes audio-visuelles fonctionnelles chez les lapereaux âgés de 10 et 17 jours, le 2-méthyl-but-2-éanal a continué à susciter une réponse
25 de recherche/saisie chez 86 et 65 % des lapereaux testés, respectivement. Ainsi, la réponse au 2-méthyl-but-2-éanal est hautement sélective chez le lapereau avant le sevrage.

La sélectivité du 2-méthyl-but-2-éanal a en outre été évaluée contre des substances odorantes auxquelles les jeunes lapereaux ont pu
30 être exposés au préalable in utero et in lacto, en particulier à partir de la nourriture des femelles gravides. Des essais conduits sur la même lignée (Néo-Zélandaise x Californienne) provenant de 5 unités d'élevage différentes recevant des régimes alimentaires différents a indiqué que la bioactivité du 2-méthyl-but-2-éanal ne dépend ni du type olfactif génétique
35 des femelles en reproduction, ni de leur régime alimentaire. Lorsque des femelles de la même souche étaient exposées pendant la gestation et la

lactation à deux régimes diététiques isocaloriques sous forme de granulés composés de constituants différents, leur descendance répondait au 2-méthyl-but-2-énal avec la même fréquence renforçant en cela la notion que l'efficacité précoce de 2-méthyl-but-2-énal ne dépend pas du bouquet
5 de composés volatils transféré au liquide amniotique ou au lait. L'efficacité comportementale élevée du 2-méthyl-but-2-énal pur dans n'importe lequel de ces contextes chimio-écologiques prouve la généralité de ses propriétés de déclenchement chez les lapins étudiés et élimine définitivement la possibilité que les réponses au 2-méthyl-but-2-énal
10 pourraient être provoquées par un apprentissage précoce dans l'environnement des individus.

La généralité de l'activité comportementale du 2-méthyl-but-2-énal a été évaluée chez d'autres races que la Néo-Zélandaise x Californienne. Les animaux (de 1 à 7 jours) de races Angora, Castor,
15 Chinchilla, Laghmere, Papillon et Lièvre belge ont montré des fréquences de réponses de recherche/saisie supérieures à 80% en présence du 2-méthyl-but-2-énal à une concentration de 10^{-6} g/l. Ce composé s'est avéré être un composé déclencheur efficace chez les nouveau-nés *O. cuniculus* indépendamment de leur génotype.

La spécificité au niveau de l'espèce du composé a en outre
20 été examinée par une exposition au 2-méthyl-but-2-énal de nouveau-nés appartenant à des espèces plus ou moins éloignées du genre *Oryctolagus*. Les nouveau-nés testés appartenaient aux Lagomorphes, à savoir *Lepus europaeus*, et à des taxons plus éloignés (*Rattus rattus*, *Mus musculus*, et *Felis catus*).
25 Aucun de ces nouveau-nés testés à ce jour n'a montré de réactivité envers le composé cible, ce qui indique une spécificité d'espèce du couplage entre le stimulus 2-méthyl-but-2-énal et la réponse de recherche/saisie (figure 5).

La démonstration précédente de la généralité au niveau de
30 l'espèce et de la spécificité de la perception de 2-méthyl-but-2-énal chez *Oryctolagus* plaide en faveur de la démonstration de la généralité de la sécrétion et de la libération de 2-méthyl-but-2-énal chez les femelles *O. cuniculus*, indépendamment de leur origine et de leur environnement alimentaire particulier. Les résultats indiquent que le 2-méthyl-but-2-énal
35 est un composé volatil invariable parmi les profils plus variables des composés volatils co-occurent dans le lait de *O. cuniculus*. Le 2-méthyl-

but-2-éanal pourrait ainsi être produit par des mécanismes biosynthétiques spécifiques.

Les travaux des inventeurs ont également consisté à rechercher si le 2-méthyl-but-2-éanal était un signal volatil émis uniquement dans le lait de lapin, ou s'il pouvait être trouvé dans le lait d'autres mammifères. A cet effet, des lapins nouveau-nés ont été exposés à des laits de mammifères non lagomorphes, tels que la ratte, la brebis, la vache, la jument et la femme. Dans aucun cas, ces laits hétérosécifiques n'ont déclenché la réponse typique de recherche/saisie chez les lapereaux (figure 6).

Enfin, pour montrer à quel point le développement de la réponse néonatale au 2-méthyl-but-2-éanal était indépendant des processus d'apprentissage, l'activité comportementale de 2-méthyl-but-2-éanal a été évaluée chez des lapereaux nouveau-nés qui n'avaient jamais été exposés préalablement au 2-méthyl-but-2-éanal dans l'environnement post-natal. A cet effet, deux expériences ont été conduites :

i) des lapereaux nouveau-nés, nés par voie naturelle ont été isolés immédiatement après une expulsion induite (à l'oxytocine) de façon à ce qu'ils n'aient eu aucun contact avec l'abdomen, la fourrure ou les glandes exocrines de mères allaitantes, ni avec le lait de celles-ci. Dès la toute première présentation du 2-méthyl-but-2-éanal (10 minutes après la naissance), ces nouveau-nés naïfs présentaient une réponse de saisie/recherche dont la forme et la cinétique n'étaient pas différenciables de celles de lapereaux élevés sous la mère ;

ii) des lapereaux délivrés par césarienne un jour avant la fin du terme de la gestation montraient une expression complète du critère de réponse à l'âge de 15 minutes. Ainsi, la perception du 2-méthyl-but-2-éanal et son pouvoir déclencheur des réponses motrices spécialisées sont complètement fonctionnels au jour précédant la naissance et ne nécessitent aucune exposition post-natale préalable.

Exemple 5 : Préparation d'une composition pour l'alimentation de lapereaux contenant le 2-méthyl-but-2-éнал.

a) préparation de la composition de base

5 Un mélange de 200 kg a été réalisé à partir de matières premières entrant communément dans l'alimentation du lapin : blé (14 %), orge (10 %), pulpes de betteraves (21 %), luzerne (35 %), tourteau de tournesol (17 %), mélange de vitamines et minéraux (0,5 %), phosphate bi-calcique (0,5 %), carbonate de calcium (1,5 %), sel (0,5 %).

10

b) préparation des matrices comprenant le 2-méthyl-but-2-éнал

Les auteurs de l'invention ont étudié le pouvoir adsorbant de deux matrices organiques (huile de tournesol, amidon de maïs purifié) et de deux matrices minérales (zéolite et carbonate de calcium), diluées à 15 0,5 % dans le mélange de base (soit 125 g de matrice pour 25 kg d'aliment). L'incorporation du 2-méthyl-but-2-éнал directement dans l'aliment après dilution dans l'eau a également été étudiée. Pour chacune des matrices testées, le 2-méthyl-but-2-éнал a été incorporé à une 20 concentration finale de 10^{-5} g/g avant granulation, soit 0,25 g pour 25 kg d'aliment. La solution aqueuse a aussi été étudiée à la concentration finale de 10^{-4} g/g (soit 2,5 g pour 25 kg d'aliment).

La préparation des matrices a été réalisée comme suit :

25 - Huile de tournesol : La quantité voulue de 2-méthyl-but-2-éнал pur (0,25 g) a été mélangée à l'huile (125 g) sous agitateur magnétique.

30 - Amidon de maïs, zéolite et CaCO_3 . Le 2-méthyl-but-2-éнал pur (0,25 g) a été dilué dans 1 ml d'éthanol, puis dans 24 ml d'eau. Cette solution liquide a été mélangée aux 125 g de matrice poudreuse, jusqu'à obtention d'un matériau homogène.

- Eau. Le 2-méthyl-but-2-éнал pur (0,25 g ou 2,5 g) a été dilué dans 1 ml d'éthanol, puis dans 24 ml d'eau. Le tout a été complété avec de l'eau jusqu'à 125 g de solution finale.

35

c) préparation des compositions alimentaires

Le mélange de base (à l'état de farine) a ensuite été divisé en fractions de 25 kg. Les 125 g de matrice ou d'eau préalablement « odorisés » avec le 2-méthyl-but-2-éanal ont été mélangés manuellement avec 1 kg de farine, puis mélangé mécaniquement (mélangeuse) avec les 24 kg de farine restant, pendant 4 à 6 minutes. La mélangeuse a été « nettoyée » entre chaque préparation. Les différentes fractions ont ensuite été granulées, en allant de la fraction la moins concentrée (aliment blanc) à la plus concentrée (10^{-4} g/g).

Un échantillon d'aliment granulé (2 kg environ) a été récupéré immédiatement après la sortie de presse dans une bonbonne isotherme et la température des granulés a été mesurée pour chacun des mélanges.

d) dosage du 2-méthyl-but-2-éanal dans les aliments après stockage

Un dosage a été réalisé sur les granulés fabriqués depuis moins de trois jours et après six semaines. Dans tous les cas, le 2-méthyl-but-2-éanal était retrouvé dans les granulés de trois jours ainsi que dans les granulés de six semaines avec toutefois une perte relative du 2-méthyl-but-2-éanal lors du stockage de l'aliment pendant six semaines.

Les aliments étudiés fraîchement fabriqués ou stockés depuis six semaines à température ambiante exercent un effet de déclenchement de la réponse recherche/saisie chez des lapereaux après un stockage de six semaines à température ambiante dans des sacs placés sous un hangar.

Lorsque le 2-méthyl-but-2-éanal était dilué dans l'eau et incorporé à une concentration finale de 10^{-4} il induisait le pourcentage de recherche le plus élevé immédiatement après la fabrication et après six semaines de stockage.

Exemple 6 : Influence du 2-méthyl-but-2-éanal sur la consommation d'aliment solide, la prise de poids chez le lapin et la mortalité.

5 Deux groupes de lapereaux sont distingués à partir de J15 en fonction de la nature de l'aliment solide qui leur est distribué :

i) le groupe « odorisé » reçoit un aliment standard + 2-méthyl-but-2-éanal en concentration finale à 10^{-5} g/g pulvérisé (n = 170 lapereaux de 17 portées) ; et

10 iii) le groupe « témoin » reçoit l'aliment standard + eau pulvérisée (n = 160 lapereaux, de 16 portées).

A J15, les cages de maternité sont divisées en deux compartiments afin de pouvoir dissocier la consommation d'aliment solide des lapereaux de celle de la mère.

15 A J29, les lapereaux sont sevrés et répartis soit en cages individuelles d'engraissement (n = 114 et 102 pour les groupes « odorisé » et « témoin », respectivement), soit en cages collectives (5 lapins/cage ; n = 42 et 47 individus pour les groupes « odorisé » et « témoin », respectivement). Le traitement expérimental est maintenu jusqu'à J42.
20 Tous les lapins reçoivent ensuite le même aliment standard non pulvérisé.

L'odorisation de l'aliment solide n'a pas d'influence sur la consommation, la prise de poids et la mortalité des lapereaux avant le sevrage. En revanche, sur la période d'engraissement (J29-70) :

- la consommation d'aliment solide tend à être plus élevée (+ 3,9 %) chez les lapins du groupe « odorisé » (en cages individuelles) ;

- la prise de poids tend à être supérieure (+ 3,7 %) chez les lapins du groupe « odorisé » (en cages individuelles et collectives) ;

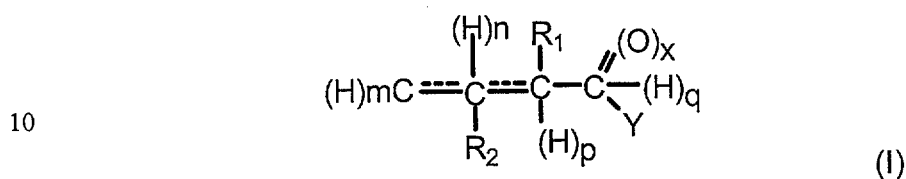
- la mortalité des lapins du groupe « odorisé » (en cages collectives) tend à être plus faible (9,5 %) que celle des lapins « témoins » (23,4 %).
30

BIBLIOGRAPHIE

- 5
- Guichard et al, (1995) Z. Lebensm. Unters. Forsch, 201,
344
- 10
- Hummel et al, (1995) Eds Techniques in Pheromone
research (Springer, New-York, 1995)
- Goodrich et al, (1981) Journal of Chemical Ecology, 7, 817.

REVENDEICATIONS

1. Composition pour l'alimentation des lapins
 5 comprenant une base formée d'un aliment liquide ou solide et de 10^{-9} à 10^{-4} g par gramme de composition totale d'un composé de formule (I) :



15

dans laquelle :

- l'un de R_1 et R_2 représente un atome d'hydrogène, et l'autre représente un groupe alkyle en C_1-C_4 ;
- la ligne pointillée représente la possibilité d'une double liaison, le cas échéant en position 2 ou 3 ;
- Y représente H ou le groupe OR_3 , R_3 représentant H, un groupe alkyle en C_1-C_4 ou un groupe acyle en C_1-C_4 ;
- x représente 0 ou 1 ;
- m représente 2 lorsqu'une double liaison est présente en position 3 et 3 dans les autres cas ;
- n représente 1 lorsque aucune double liaison n'est présente et 0 lorsqu'une double liaison est présente en position 2 ou 3 ;
- p représente 0 lorsqu'une double liaison est présente en position 2 et 1 lorsque aucune double liaison n'est présente en position 2 ;
- q représente 0 lorsque x représente 1 et 2 lorsque x représente 0 ;

ainsi que les tautomères et sels d'addition de bases acceptables sur le plan alimentaire lorsque Y représente OR_3 et R_3 est H, à l'exception du lait de lapine naturel.

35

2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'aliment est sous forme solide et comprend un mélange de matières premières d'origine essentiellement végétale.

5 3. Composition selon la revendication 2, caractérisée en ce qu'elle comprend un mélange de matières premières d'origine essentiellement végétale, broyées sous forme de farine.

10 4. Composition selon la revendication 2, caractérisée en ce que les matières premières proviennent de graines de céréales ou leurs dérivés.

15 5. Composition selon la revendication 2, caractérisée en ce que les matières premières proviennent de racines ou tubercules ou leurs dérivés.

20 6. Composition selon l'une des revendications 2 à 4, caractérisée en ce que les matières premières proviennent d'oléagineux, de protéagineux et leurs dérivés.

7. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'aliment est sous forme de granulés.

25 8. Composition selon la revendication 6, caractérisée en ce que le composé de formule générale (I) selon la revendication 1 est incorporé dans les granulés.

30 9. Composition selon la revendication 6, caractérisée en ce que le composé de formule générale (I) selon la revendication 1 est adsorbé à la surface des granulés.

35 10. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle est destinée à l'alimentation des lapines reproductrices et comprend de 10^{-9} à 10^{-4} g du

composé de formule générale (I) selon la revendication 1 par gramme de la composition totale.

5 11. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle est destinée à l'alimentation des lapereaux âgés d'au moins 10 jours et comprend de 10^{-9} à 10^{-4} g du composé de formule générale (I) selon la revendication 1 par gramme de composition totale.

10 12. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'aliment est sous forme liquide et comprend de 10^{-9} g/ml à 10^{-4} g/ml de composé de formule générale (I) selon la revendication 1.

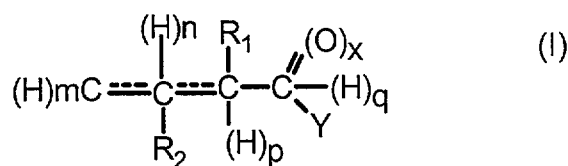
15 13. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'aliment est de l'eau de boisson des lapines reproductrices et comprend de 10^{-9} g/ml à 10^{-4} g/ml du composé de formule générale (I) selon la revendication 1.

20 14. Composition selon la revendication 12, caractérisée en ce que l'aliment est de l'eau de boisson des lapereaux âgés d'au moins 10 jours et comprend de 10^{-9} à 10^{-4} g/ml du composé de formule générale (I) selon la revendication 1.

25 15. Composition selon la revendication 12, caractérisée en ce que l'aliment est une formule lactée adaptée au lapereau contenant le composé de formule générale (I) selon la revendication 1 à une concentration de 10^{-9} à 10^{-4} g/ml.

30 16. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le composé de formule générale (I) selon la revendication 1 est le 2-méthyl-but-2-éнал.

17. Utilisation du de formule (I) :



5

dans laquelle :

- l'un de R_1 et R_2 représente un atome d'hydrogène, et l'autre représente un groupe alkyle en C_1-C_4 ;
- 10 - la ligne pointillée représente la possibilité d'une double liaison, le cas échéant en position 2 ou 3 ;
- Y représente H ou le groupe OR_3 , R_3 représentant H, un groupe alkyle en C_1-C_4 ou un groupe acyle en C_1-C_4 ;
- x représente 0 ou 1 ;
- 15 - m représente 2 lorsqu'une double liaison est présente en position 3 et 3 dans les autres cas ;
- n représente 1 lorsque aucune double liaison n'est présente et 0 lorsqu'une double liaison est présente en position 2 ou 3 ;
- p représente 0 lorsqu'une double liaison est présente en position 2 et 1 lorsque aucune double liaison n'est présente en position 2 ;
- 20 - q représente 0 lorsque x représente 1 et 2 lorsque x représente 0 ;

ainsi que les tautomères et sels d'addition de bases acceptables sur le plan alimentaire lorsque Y représente OR_3 et R_3 est H, comme additif de l'alimentation de lapins.

25

18. Utilisation selon la revendication 17, caractérisée en ce que le composé de formule générale (I) est le 2-méthyl-but-2-éнал.

30 19. Procédé destiné à augmenter l'ingestion d'aliment par le jeune lapin, caractérisé en ce qu'il consiste à incorporer à une composition alimentaire pour jeunes lapins ou femelles reproductrices de 10^{-9} g à 10^{-4} g/g de composition alimentaire totale d'un composé de formule générale (I).

35

20. Procédé selon la revendication 19, caractérisé en ce que le composé de formule générale (I) est le 2-méthyl-but-2-éнал.

5 21. Procédé destiné à réduire la mortalité des lapereaux ou des jeunes lapins, caractérisé en ce qu'il consiste à administrer aux lapins ou aux jeunes lapereaux une composition comprenant de 10^{-9} à 10^{-4} g/g de composition d'un composé de formule générale (I) selon la revendication (I).

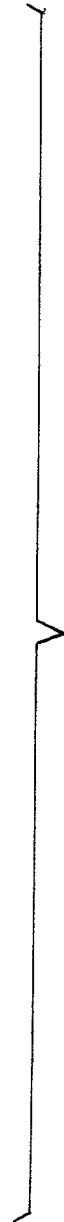
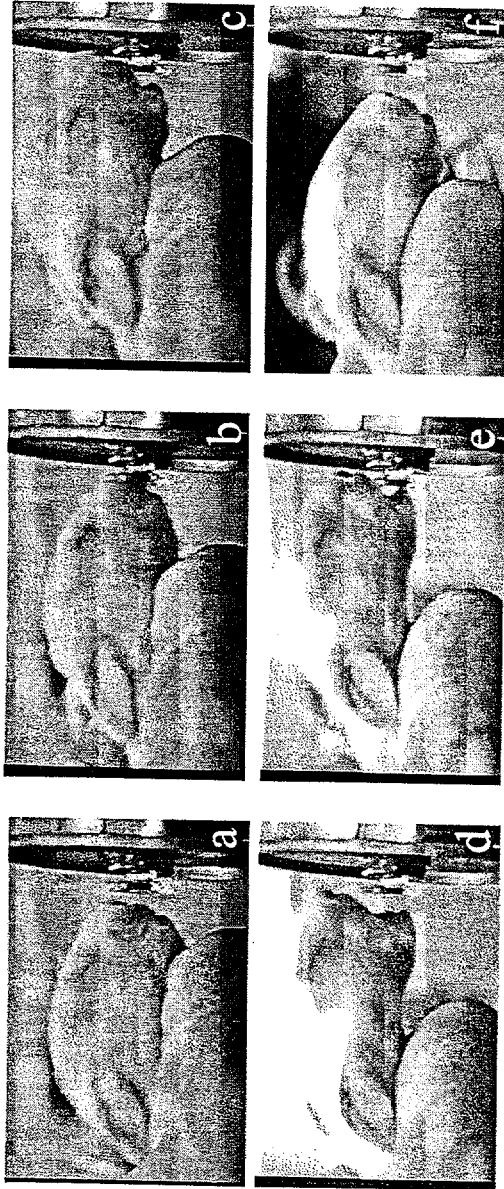


FIG. 1

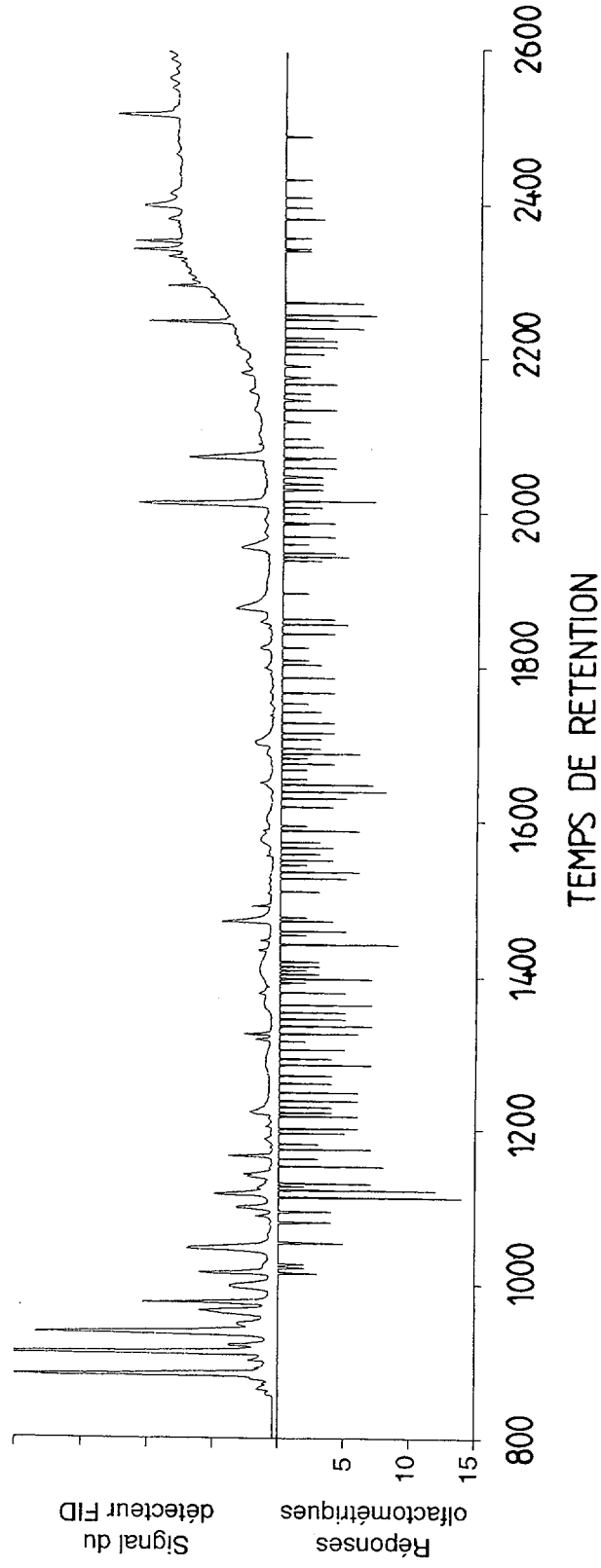


FIG. 2

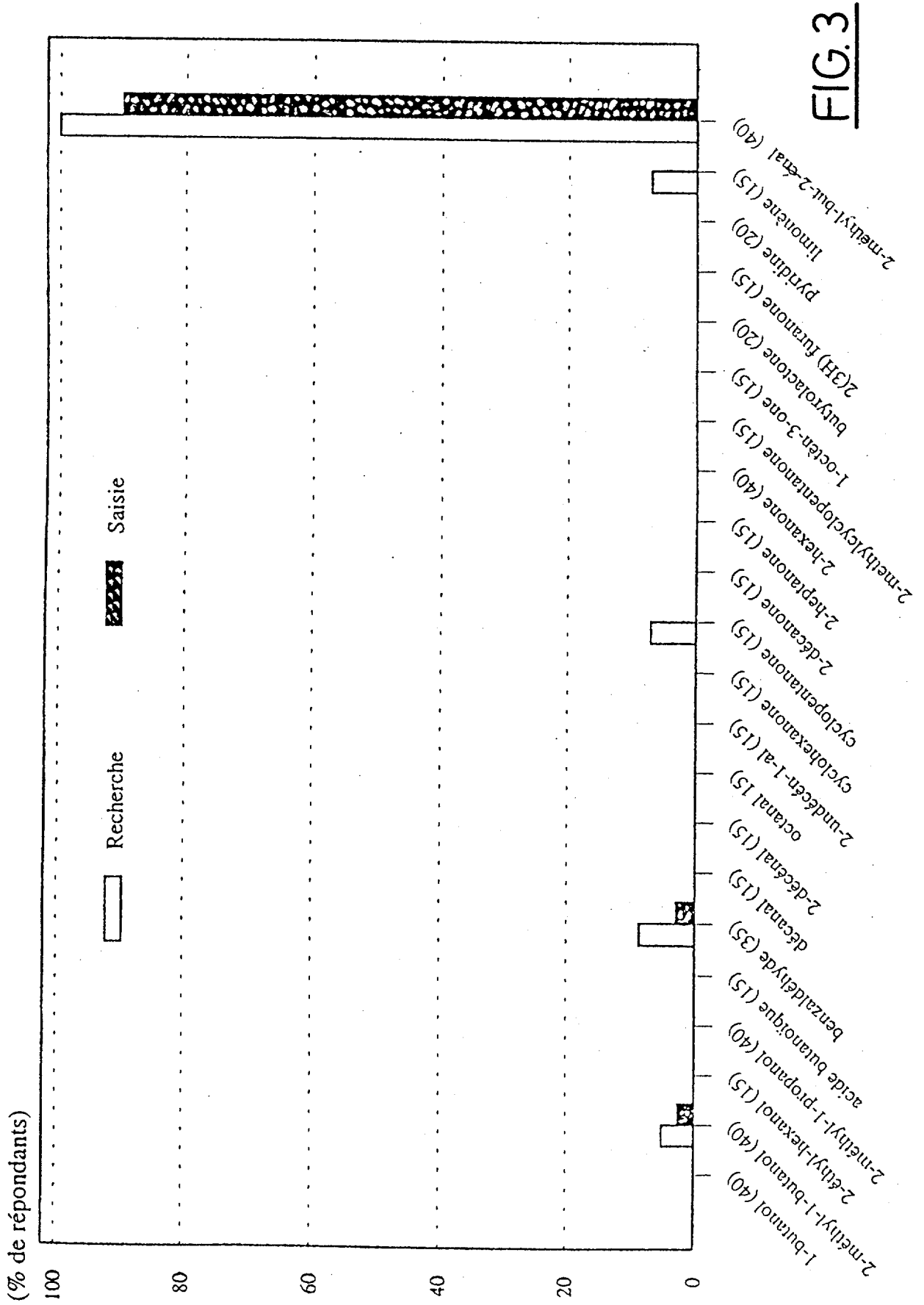


FIG. 3

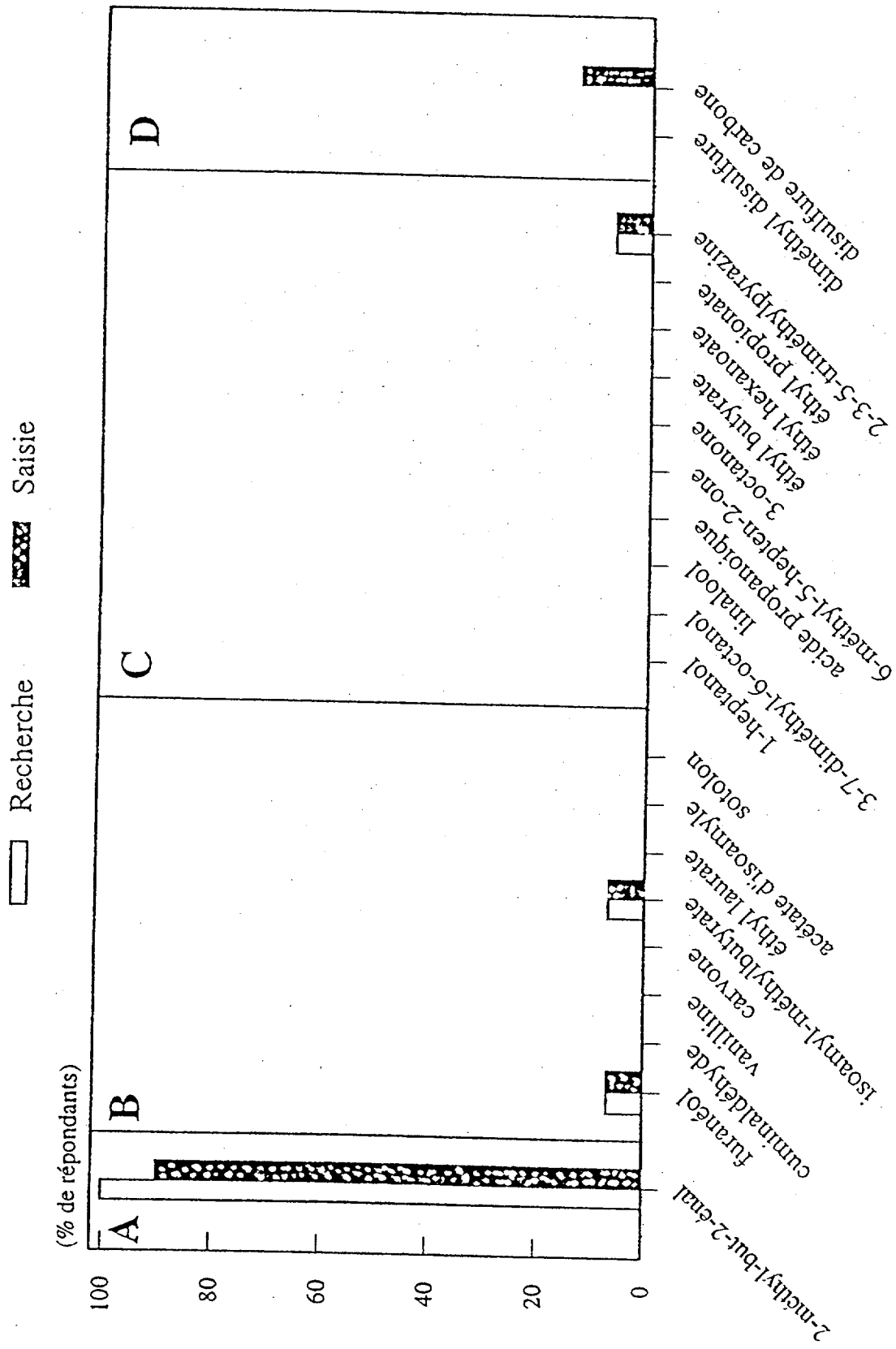


FIG. 4

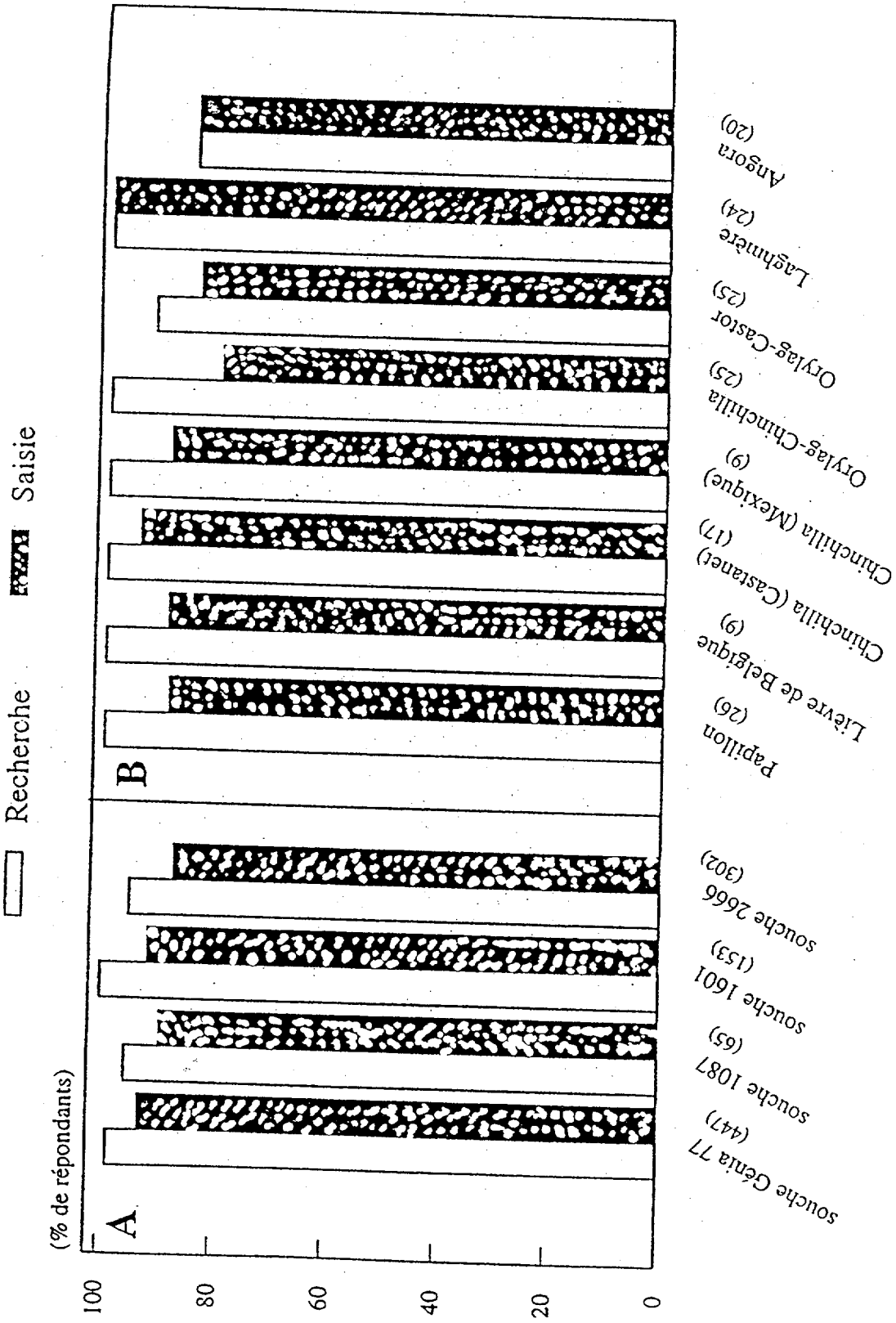


FIG. 5

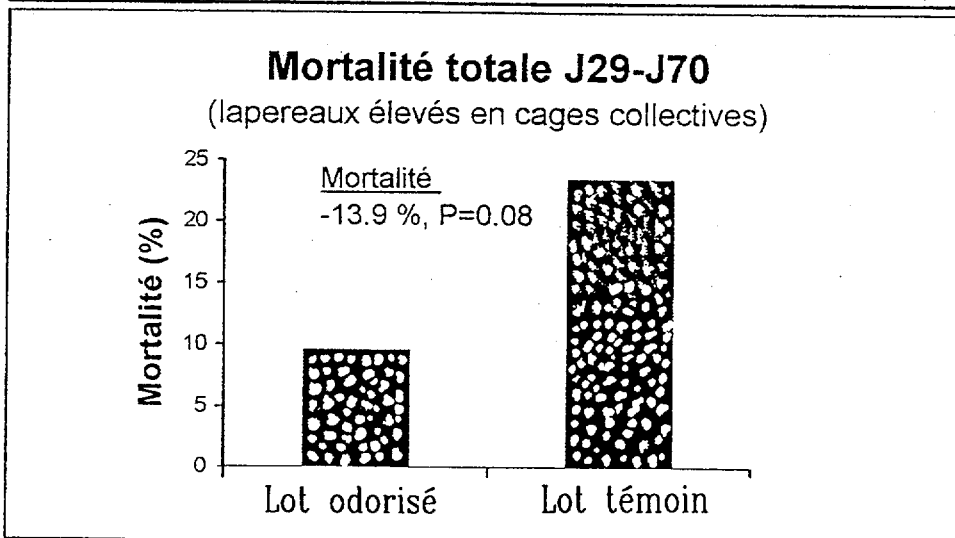
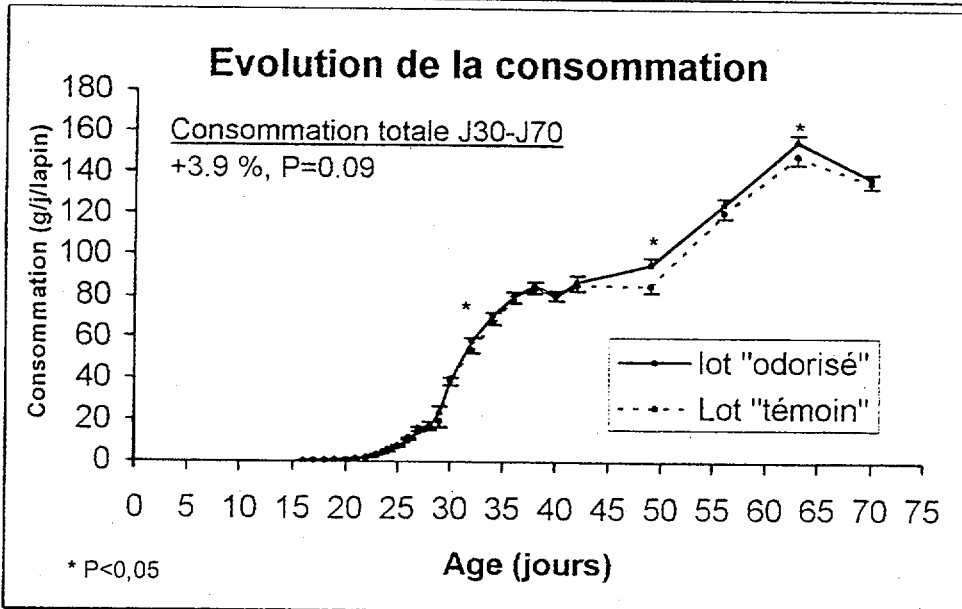
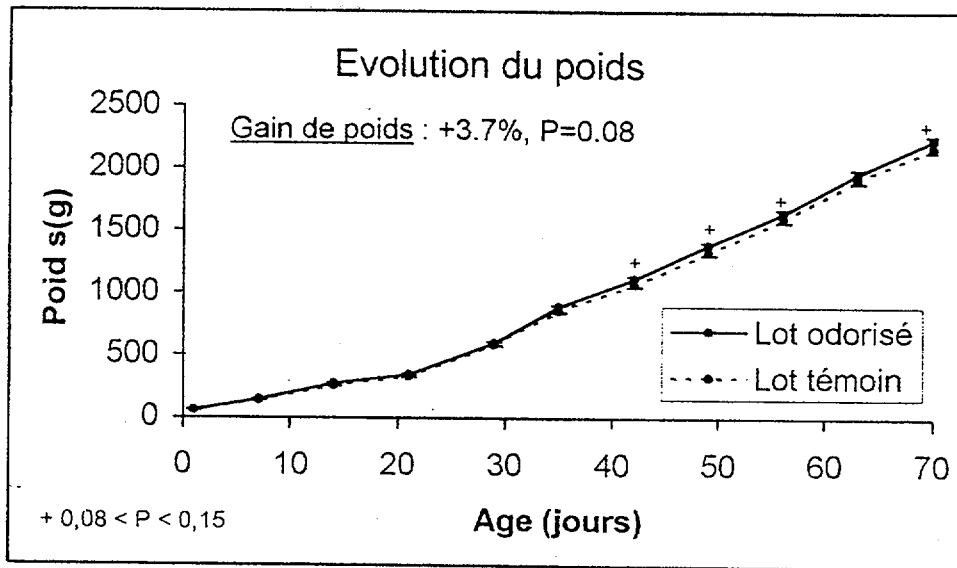


FIG.6



2821243

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement
national

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 601414
FR 0102752

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	GB 2 118 420 A (LICENCIA TALALMANYOKAT) 2 novembre 1983 (1983-11-02) * page 1, colonne 2, ligne 95-129 * * revendication 1 * ---	1-3,10, 11,17	A23K1/18
A	FR 2 788 198 A (TECH ANIMALES BUREAU DES) 13 juillet 2000 (2000-07-13) * page 2, alinéas 1-4; revendication 1 * ---	7-9	
A	WO 95 11597 A (SETAELAE JOUKO ;TIRKKONEN TAPANI (FI)) 4 mai 1995 (1995-05-04) * exemple 1 * ---	4	
A	DE 199 00 476 A (BODE RUEDIGER) 13 juillet 2000 (2000-07-13) * page 2, ligne 29-34 * * page 7, ligne 36-39 * * revendication 1; exemple 1 * ---	5,6, 12-15, 19,21	
A	HUDSON R, AND DISTEL, H.: "On the nature and action of the nipple search pheromone: a review" ADVANCES IN THE BIOSCIENCES. SYMPOSIUM, vol. 93, 1994, pages 223-232, XP001031480 * page 225, alinéas 1-3 * * page 227, alinéas 3,4 * * page 230 - page 231 * ---	1-21	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)
			A23K A01N A23C
		-/--	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
28 novembre 2001		Rooney, K	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

2
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)



2821243

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement
national

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 601414
FR 0102752

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	<p>HUDSON, R., SCHAAL, B., AND BILKO, A.: "Transmission of olfactory information from mother to young in the european rabbit" SYMPOSIUM OF THE ZOOLOGICAL SOCIETY OF LONDON; MAMMALIAN SOCIAL LEARNING:; COMPARATIVE AND ECOLOGICAL PERSPECTIVES, vol. 72, 1999, pages 141-157, XP001041487 Cambridge, UK * page 145, alinéas 1,2 * * page 148, alinéa 2 *</p>	1-21	<p>DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)</p>
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
28 novembre 2001		Rooney, K	
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p>		<p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>	

2

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0102752 FA 601414**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **28-11-2001**.
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
GB 2118420	A	02-11-1983	AUCUN	
FR 2788198	A	13-07-2000	FR 2788198 A1	13-07-2000
WO 9511597	A	04-05-1995	WO 9511597 A1	04-05-1995
DE 19900476	A	13-07-2000	DE 19900476 A1	13-07-2000