

## (12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 60435 A1**
- (43) Date de publication : **31.12.2024**
- (51) Cl. internationale :  
**A23K 10/16; A23K 10/18;  
A23K 20/00; A23K 50/42;  
A23L 33/135; A61K 35/74;  
A61Q 11/00; A61Q 11/00;  
A23K 10/16; A23L 33/135;  
A61K 35/74; A61K 35/748;  
A61K 8/99; A61K 8/99**

- 
- (21) N° Dépôt :  
**60435**
- (22) Date de Dépôt :  
**09.05.2023**
- (71) Demandeur(s) :  
**INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE AGRONOMIQUE, Av. Annasr RABAT (MA)**
- (72) Inventeur(s) :  
**ZEROUAL Youssef ; Bouchra EL AMIRI ; Siboueih Mounia ; Essamadi  
Abdelkhalid ; Rahim Abdellatif**
- (74) Mandataire :  
**Abdelaziz YASRI**

- 
- (54) Titre : **Additif alimentaire à base de la spiruline contre la fluorose endémique des ruminants**
- (57) Abrégé : La présente invention concerne de manière générale un nouvel additif alimentaire à base d'une microalgue nommée la spiruline, dans le but de prévenir la fluorose endémique. Il s'agit d'une solution préventive naturelle, qui peut être appliquée à tous les ruminants conduits sur des parcours dans les zones à fluorose endémique. La spiruline a été incorporée à un aliment concentré. Cet additif a l'avantage d'être riche en biomolécules, ce qui entraîne une amélioration de l'efficacité de réduction de l'absorption du fluorure et de ses dérivés par les ruminants. La fluorose dentaire ainsi que d'autres intoxications par le fluorure chez les animaux élevés sur les zones endémiques sont donc prévenues.

**Additif alimentaire à base de la spiruline contre la fluorose endémique des ruminants****Abrégé**

La présente invention concerne de manière générale un nouvel additif alimentaire à base d'une microalgue nommée la spiruline, dans le but de prévenir la fluorose endémique. Il s'agit d'une solution préventive naturelle, qui peut être appliquée à tous les ruminants conduits sur des parcours dans les zones à fluorose endémique. La spiruline a été incorporée à un aliment concentré. Cet additif a l'avantage d'être riche en biomolécules, ce qui entraîne une amélioration de l'efficacité de réduction de l'absorption du fluorure et de ses dérivés par les ruminants. La fluorose dentaire ainsi que d'autres intoxications par le fluorure chez les animaux élevés sur les zones endémiques sont donc prévenues.

**Description**

[0001] Domaine technique auquel se rapporte l'invention

[0002] L'invention concerne l'utilisation d'un nouvel additif alimentaire «la spiruline».

[0003] Etat de la technique

[0004] Le fluorure est un halogène très réactif, il peut être combiné avec d'autres éléments pour former du fluorure ionique ou covalent, qui est un composé inorganique plus stable. De plus, le fluorure a une forte affinité pour les cations divalents. Par conséquent, une ingestion excessive ou à faible dose sur une longue période de cet élément chez les animaux peut aboutir à son accumulation dans les tissus calcifiés, tels que les dents et les os, et entraîner de ce fait des lésions dentaires et squelettiques irréversibles sous forme d'une fluorose ostéo-dentaire. En outre, l'augmentation de la dose de fluorure ingérée produit des effets néfastes sur les tissus mous, y compris le tractus gastro-intestinal, les poumons, le foie, les reins et le cœur, conduisant à une fluorose non squelettique. Le fluorure peut également affecter certains paramètres biochimiques et génétiques.

[0005] La fluorose dentaire est une grave manifestation de la fluorose endémique puisqu' elle s'agit d'une hypoplasie particulière de l'émail causée par un apport excessif de fluorure lors de l'éruption des dents adultes.

[0006] L'indice de classification de Dean (Dean, 1934) est la méthode la plus reconnue par l'organisation mondiale de la santé (OMS) comme méthode de référence pour classer les lésions dentaires selon le degré d'intoxication par le fluorure.

[0007] L'indice de classification de Dean est basé sur les scores attribués aux dommages dentaires causés par l'exposition chronique au fluorure. Ces scores sont décrits comme suit :

Score 0 (Normal) lorsque les dents sont lisses, brillantes avec une surface translucide crémeuse pâle sans décoloration blanche.

Score 1 (Discutable) lorsque des taches blanches apparaissent principalement sur le bord des incisives et des cuspides.

Score 2 (Très léger) lorsqu'il y'a des petites zones blanches opaques couvrant moins de 25% de la surface de la dent.

Score 3 (Léger) lorsque des zones blanches opaques couvrant moins de 50% de la surface de la dent apparaissent.

Score 4 (Modéré) lorsque toutes les surfaces des dents sont affectées, une détérioration marquée des surfaces occlusales et des taches brunes apparaît.

Score 5 (Grave) lorsqu'il y'a présence d'une hypoplasie généralisée de l'émail, des taches brunes, des petites cavités isolées ou confluentes et des pertes de substances, ainsi que la forme générale de la dent peut être modifiée (Rahim et al., 2022).

[0008] Dans de nombreux pays, la fluorose endémique a été documentée. Dans certains cas, les ruminants ont attiré d'avantage l'attention des chercheurs du monde entier comme l'Inde, la Chine, la Turquie et le Maroc, en raison de l'importance économique de l'élevage.

[0009] Au Maroc, la fluorose est considérée comme le premier problème toxicologique en raison de sa répartition géographique ainsi que la grande diversité d'espèces qu'elle attaque. Parmi ces espèces, les ruminants sont plus sensibles à la fluorose que les monogastriques.

[0010] Dans plusieurs régions endémiques, les ruminants sont exposés de manière chronique à de fortes concentrations de fluorure. En effet, cet élément pénètre dans l'organisme par plusieurs voies, soit par inhalation, ou par la consommation de l'eau d'abreuvement et des plantes poussées dans un sol contaminé. Ceci conduit à la fluorose sous différentes formes. A titre

d'exemple, la bioaccumulation du fluorure dans les dents et les os peut provoquer plusieurs effets nocifs sous forme de fluorose dentaire et squelettique. De plus, des troubles locomoteurs empêchent l'animal de se déplacer pour trouver sa nourriture et s'aggrave par la diminution de l'ingestion des aliments. En outre, pour compenser ses déficits énergétiques, l'animal catabolise ses réserves lipidiques et protéiques, entraînant une perte de poids allant jusqu'au son décès. Ce qui conduit à des pertes socio-économiques considérables pour les éleveurs.

[0011] Etant donné les effets irréversibles du fluorure, la prévention reste le meilleur moyen pour réduire sa toxicité chez l'animal. Dans ce cadre, plusieurs stratégies ont été adoptées par les éleveurs ainsi que par les chercheurs dans différents pays du monde. Par exemple, dans les zones endémiques du Maroc, les éleveurs vendent les jeunes animaux avant l'apparition de leurs deux premières dents adultes et achètent des animaux adultes des zones non touchées (El Amiri et al., 2022). Cependant, cette stratégie reste limitée à cause d'une perte de bénéfice pour l'éleveur en raison des faibles prix de vente des jeunes animaux. Par ailleurs, la transhumance est une autre stratégie qui a été adoptée par les éleveurs. Cependant, elle n'est plus pratiquée de nos jours en raison de la détérioration des relations sociales entre les éleveurs de différentes régions. De plus, plusieurs technologies ont été pratiquées dans ces régions endémiques pour la défluoruration de l'eau. Pourtant, dans de nombreux cas, le manque d'infrastructure, d'expertise technique et les coûts d'exploitation élevés sont des facteurs majeurs limitant leur large utilisation.

[0012] Les chercheurs ont tenté d'utiliser certains métaux comme chélateurs pour réduire ou prévenir la toxicité du fluorure chez les ruminants avec des résultats plus ou moins réussis. Cependant, certains chélateurs synthétiques sont eux-mêmes signalés comme ayant un certain nombre de problèmes sanitaires. Récemment, les recherches se sont orientées vers des ressources naturelles riches en biomolécules et sans effets nocifs pour la santé animale (Samal

et al., 2016). Toutefois, ces études se sont concentrées uniquement sur la fluorose induite expérimentalement par le fluorure de sodium.

[0013] La spiruline contient une large gamme de minéraux bivalents tels que le magnésium, le calcium, le sélénium, le manganèse, le zinc et le cuivre (Rahim et al., 2021). Le fluorure étant un halogène hautement électronégatif et ayant une grande affinité avec ces minéraux bivalents, ils sont capables de le chélater et de réduire sa biodisponibilité et favoriser de ce fait son excrétion urinaire.

[0014] La fluorose est une maladie associée au stress oxydatif (Suzuki et al., 2015). La spiruline possède une large gamme de biomolécules, principalement des phycocyanines, des caroténoïdes et de la chlorophylle. C'est également l'une des sources les plus riches en polyphénols, en acide linoléique, en vitamine E et en minéraux. La phycocyanine possède un groupe prosthétique tétrapyrrol linéaire appelé biline, ayant une forte capacité à piéger les espèces réactives de l'oxygène et peut se comporter comme un antioxydant.

[0015] D'autres antioxydants naturels issus de la spiruline, tels que le  $\beta$ -carotène, la zéaxanthine, le lycopène, la lutéine et la chlorophylle ont fait l'objet d'une attention considérable, en raison de leur capacité à soutenir le système physiologique contre le stress oxydatif. Ces molécules peuvent directement inhiber la peroxydation des lipides et piéger les radicaux libres ou indirectement améliorer l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase (Ourida et al., 2017). Les caroténoïdes peuvent également constituer une ligne de défense contre le stress oxydatif et jouer un rôle important dans la santé des os.

[0016] Le  $\beta$ -carotène, la lutéine/zéaxanthine, le lycopène et les caroténoïdes totaux ont un effet significatif contre la fluorose squelettique. Le lycopène peut exercer une double activité anti-catabolique et pro-anabolique dans l'os en neutralisant la voie de transduction du signal NF- $\kappa$ B, en inhibant la différenciation des ostéoclastes et en favorisant la minéralisation des ostéoblastes

(Kim et al., 2003). En outre, il a un impact bénéfique sur la formation osseuse et peut impliquer des conséquences possibles en ce qui concerne son utilisation dans la chimio-prévention de la fluorose squelettique (Liu et al., 2018).

[0017] Les polyphénols les plus abondants dans la spiruline sont l'acide gallique et l'acide caféique. Ce dernier a un effet protecteur contre les lésions hépatiques induites par l'intoxication chronique du fluorure, diminue les niveaux de fluorure sérique et régule le niveau d'antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. De plus, l'acide caféique inhibe l'apoptose induite par le fluorure en modifiant les expressions de Bax et de la caspase-3p20. L'acide gallique protège contre l'hypertension et contre la toxicité hépatorenale induite par le fluorure en abaissant la pression artérielle, en inhibant la peroxydation lipidique, la carbonylation des protéines et en améliorant la voie antioxydante enzymatique et non enzymatique (Ola-Davies and Olukole, 2018).

[0018] Résumé de l'invention

[0019] Le schéma technique adopté par la présente invention est : un nouvel additif alimentaire proposé comme solution efficace pour prévenir la fluorose chez les ruminants élevés dans les zones endémiques.

[0020] L'étude a été réalisée en un laboratoire vivant puisqu'elle s'est déroulée en milieu réel chez un éleveur d'une zone à fluorose endémique. Les ruminants conduits sur des pâturages naturels de ces zones ont reçu un aliment concentré contenant de la spiruline. L'expérience a commencée dès le jeune âge des animaux (5 mois d'âge environ) jusqu'à l'éruption des deux premières dents.

[0022] Avant la distribution de l'additif présenté en haut, les animaux ont été pesés puis traités contre l'entérotaxémie et les parasites internes et externes. Un programme prophylactique a été aussi adopté tout au long de l'essai.

[0023] Durant l'expérimentation, les animaux ont été pesés tous les 15 jours pour réajuster la dose de la spiruline distribuée.

[0024] Les animaux utilisés ont été regroupés en 3 lots de même effectif.

- Groupe I qui forme le lot témoin sain a été élevé dans une zone sans fluorose. Son alimentation est composée d'aliment concentré sans spiruline.
- Groupe II est composé d'animaux élevés dans une zone à fluorose endémique. En plus du pâturage, chaque animal recevait un aliment concentré auquel une quantité faible de spiruline a été incorporée à raison de 400 à 600 mg/kg de poids vif ou plus.
- Groupe III considéré comme témoin positif a été composée d'animaux élevés dans une zone à fluorose endémique et ne recevant pas de spiruline. Son alimentation a été basée sur le pâturage et un aliment concentré.

[0025] Des échantillons de sang ont été prélevés à une fréquence d'une fois tous les 15 jours. Ces échantillons ont été utilisés pour déterminer les niveaux de fluorure plasmatique et pour évaluer l'évolution d'enzymes et de marqueurs de stress tels que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, le glutathion réduit ainsi que le taux de peroxydation lipidique (malondialdéhyde). L'examen clinique de l'état de la dentition a été réalisé chez tous les animaux selon l'indice de classification de Dean jusqu'apparition de leurs deux premières dents adultes.

[0026] Brève description des dessins

Le tableau 1 montre l'effet de la spiruline sur l'état de la dentition chez les ruminants selon l'indice de Dean.

La figure 1 illustre l'effet de la spiruline sur le fluorure plasmatique chez les ruminants.

Le tableau 2 illustre l'effet de la spiruline sur les enzymes et les marqueurs de stress chez les ruminants.

Dans les figures : (Groupe I) témoin sain ; (Groupe II) animaux recevant l'additif spiruline à une dose de 400 à 600 mg/kg/jour/tête ou plus ; (Groupe III) animaux à fluorose.

**Références bibliographiques**

Dean, H.T., 1934. Classification of Mottled Enamel Diagnosis. *Journal of the American Dental Association* 21, 1421–1426.

El Amiri, B., Abdellatif, R., Mounia, S., Ma, 2022. Perception et pratiques d'élevage pour atténuer la fluorose chez les ovins dans trois communes de la province de Khouribga-Maroc. *African and Mediterranean Agricultural Research Journal-Al-Awamia* 133, 1-17.

Kim, L., Rao, A.V., Rao, L.G., 2003. Lycopene II--effect on osteoblasts: the carotenoid lycopene stimulates cell proliferation and alkaline phosphatase activity of SaOS-2 cells. *Journal of Medicinal Food* 6, 79–86.

Liu, J., Yang, S., Luo, M.J., Zhao, X., Zhang, Y.M., Luo, Y., 2018. Association of Dietary Carotenoids Intake with Skeletal Fluorosis in the Coal-burning Fluorosis Area of Guizhou Province. *Biomedical and Environmental Sciences* 31, 438–447.

Ola-Davies, O.E., Olukole, S.G., 2018. Gallic acid protects against bisphenol A-induced alterations in the cardio-renal system of Wistar rats through the antioxidant defense mechanism. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 107, 1786–1794.

Ourida, A., Amiali, M., Bouzid, N., Belkacemi, K., Bitam, A., 2017. Effect of *Spirulina platensis* ingestion on the abnormal biochemical and oxidative stress parameters in the pancreas and liver of alloxan-induced diabetic rats. *Pharmaceutical Biology* 55, 1304–1312.

Rahim, A., Çakir, C., Ozturk, M., Şahin, B., Soulaïmani, A., Sibaoueih, M., Nasser, B., Eddoha, R., Essamadi, A., El Amiri, B., 2021. Chemical characterization and nutritional value of *Spirulina platensis* cultivated in natural conditions of Chichaoua region (Morocco). *South African Journal of Botany* 141, 235–242.

Rahim, A., Essamadi, A., El Amiri, B., 2022. A comprehensive review on endemic and experimental fluorosis in sheep: Its diverse effects and prevention. *Toxicology* 465, 153025.

Samal, P., Patra, R.C., Gupta, A.R., Mishra, S.K., Jena, D., Satapathy, D., 2016. Effect of *Tamarindus indica* leaf powder on plasma concentrations of copper, zinc, and iron in fluorotic cows. *Veterinary World* 9, 1121–1124.

Suzuki, M., Bandoski, C., Bartlett, J.D., 2015. Fluoride induces oxidative damage and SIRT1/autophagy through ROS-mediated JNK signaling. *Free Radical Biology and Medicine* 89, 369–378.

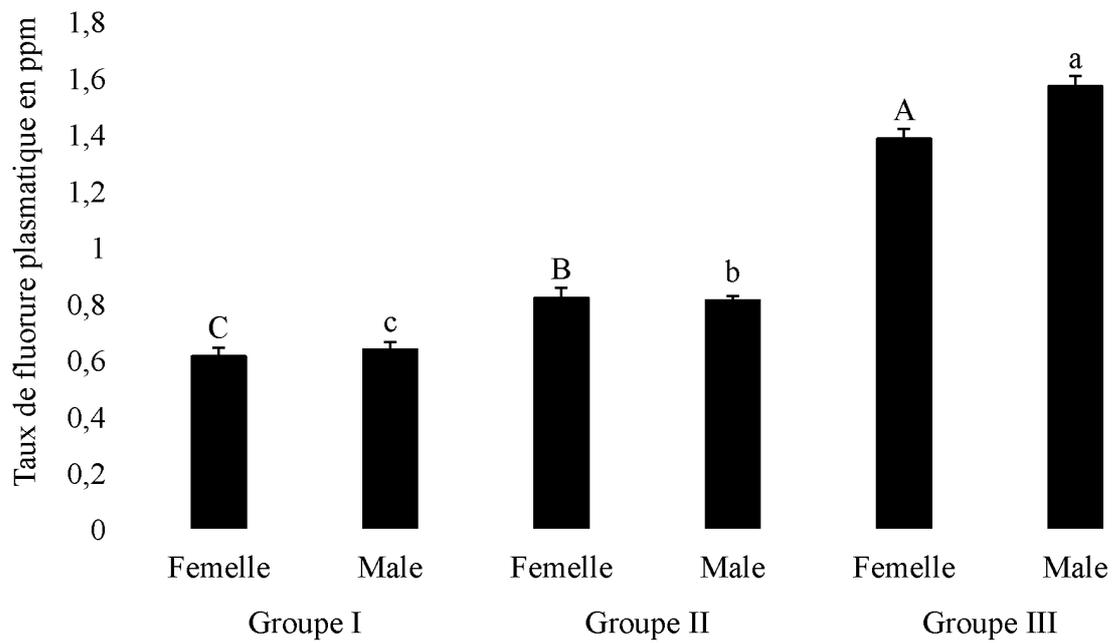
**Revendications**

- 1) Un nouvel additif alimentaire contenant un aliment concentré auquel une faible quantité de spiruline a été incorporée à raison de 400 à 600 mg/kg de poids vif pour une protection de 100% contre la fluorose dentaire et une amélioration remarquable contre le stress oxydatif généré.
- 2) Un additif alimentaire selon la revendication 1 pour prévenir la fluorose chez les ruminants causée par une intoxication chronique au fluorure ou autre cause connue ou non connue.
- 3) Un additif alimentaire selon les revendications 1 et 2, dans lequel la condition est la fluorose ou une tache sur l'émail provoquée par la fluorose.
- 4) Un additif alimentaire selon les revendications 1 et 2 pour une ingestion quotidienne par les ruminants dès le plus jeune âge.
- 5) Un additif alimentaire selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il est préparé selon les étapes suivantes :
  - a- Une dose individuelle 400 à 600 mg/kg de poids vif/jour.
  - b- Incorporée à 400 g de concentré par animal.
  - c- Les animaux reçoivent ce mélange quotidiennement.
  - d- Les animaux sont autorisés au pâturage dans les zone à fluorose endémique.

**Dessins**

Tableau 1

Score (%)	Groupe I		Groupe II		Groupe III	
	Femelle	Male	Femelle	Male	Male	Femelle
Normal	100	83	88	75	0	0
Discutable	0	17	12	25	0	0
Très léger	0	0	0	0	17	33
Léger	0	0	0	0	33	50
Modéré	0	0	0	0	50	16
Grave	0	0	0	0	0	0



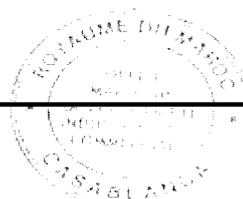
(Figure,1)

Tableau 2

Groupe	Sexe	GSH (mg/dl)	MDA (nmol/ml)	CAT (k/gHb)	SOD (U/gHb)
Groupe I	Femelle	27,46±1,09 <sup>C</sup>	1,89±0,08 <sup>C</sup>	4,04±0,14 <sup>A</sup>	74,25±3,01 <sup>A</sup>
	Male	27,61±1,88 <sup>c</sup>	1,85±0,19 <sup>c</sup>	3,72±0,24 <sup>a</sup>	78,12±5,27 <sup>a</sup>
Groupe II	Femelle	33,80±0,15 <sup>B</sup>	2,47±0,06 <sup>B</sup>	2,91±0,03 <sup>B</sup>	34,73±0,56 <sup>B</sup>
	Male	33,83±0,28 <sup>b</sup>	2,49±0,05 <sup>b</sup>	2,92±0,04 <sup>b</sup>	32,40±0,59 <sup>b</sup>
Groupe III	Femelle	48,12±1,17 <sup>A</sup>	3,20±0,12 <sup>A</sup>	2,05±0,03 <sup>C</sup>	18,48±1,79 <sup>C</sup>
	Male	47,91±1,22 <sup>a</sup>	3,13±0,11 <sup>a</sup>	2,03±0,04 <sup>c</sup>	19,75±1,53 <sup>c</sup>

**RAPPORT DE RECHERCHE  
AVEC OPINION SUR LA BREVETABILITE**  
(Conformément aux articles 43 et 43.2 de la loi 17-97 relative à la  
protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée  
par la loi 23-13)

<b>Renseignements relatifs à la demande</b>	
N° de la demande : 60435	Date de dépôt : 09/05/2023
Déposant : INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE AGRONOMIQUE	
Intitulé de l'invention : Additif alimentaire à base de la spiruline contre la fluorose endémique des ruminants	
Le présent document est le rapport de recherche avec opinion sur la brevetabilité établi par l'OMPIC conformément aux articles 43 et 43.2, et notifié au déposant conformément à l'article 43.1 de la loi 17-97 relative à la protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.	
Les documents brevets cités dans le rapport de recherche sont téléchargeables à partir du site <a href="http://worldwide.espacenet.com">http://worldwide.espacenet.com</a> , et les documents non brevets sont joints au présent document, s'il y en a lieu.	
Le présent rapport contient des indications relatives aux éléments suivants :	
Partie 1 : Considérations générales	
<input checked="" type="checkbox"/> Cadre 1 : Base du présent rapport	
<input type="checkbox"/> Cadre 2 : Priorité	
<input type="checkbox"/> Cadre 3 : Titre et/ou Abrégé tel qu'ils sont définitivement arrêtés	
Partie 2 : Rapport de recherche	
Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité	
<input type="checkbox"/> Cadre 4 : Remarques de forme et de clarté	
<input type="checkbox"/> Cadre 5 : Défaut d'unité d'invention	
<input type="checkbox"/> Cadre 6 : Observations à propos de certaines revendications exclues de la brevetabilité	
<input checked="" type="checkbox"/> Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle	
Examineur: BASMA SADIKI	Date d'établissement du rapport : 21/09/2023
Téléphone: 212 5 22 58 64 14/00	



**Partie 1 : Considérations générales****Cadre 1 : base du présent rapport**

Les pièces suivantes de la demande servent de base à l'établissement du présent rapport :

- Description  
9 Pages
- Revendications  
5
- Planches de dessin  
2 Pages

**Partie 2 : Rapport de recherche**

Classement de l'objet de la demande :

CIB : A23K20/00, A23K10/16, A23K10/18, A23K50/42; A23L33/135, A61K35/74, A61K8/99, A61Q11/00

CPC : A61K35/748, A61Q11/00, A23K10/16, A23L33/135, A61K35/74, A61K8/99, A61P1/02, A61Q11/00

Plateformes et bases de données électroniques de recherche :

EPOQUENET, WPI, ScienceDirect, IEEE, ORBIT

Catégorie*	Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	N° des revendications visées
A	EP2285344B1 ; ROQUETTE FRERES [FR] ; 2011-02-23 Document entier	1-5
A	US20170273895A1 ; BASF SE [DE] ; 2017-09-28 Document entier	1-5
A	JP5632874B2 ; BASF SE ; 2014-11-26 Document entier	1-5
A	CN103384526B ; BASF SE ; 2013-11-06 Document entier	1-5

**\*Catégories spéciales de documents cités :**

-« X » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément  
-« Y » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier  
-« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent  
-« P » documents intercalaires ; Les documents dont la date de publication est située entre la date de dépôt de la demande examinée et la date de priorité revendiquée ou la priorité la plus ancienne s'il y en a plusieurs  
-« E » Éventuelles demandes de brevet interférentes. Tout document de brevet ayant une date de dépôt ou de priorité antérieure à la date de dépôt de la demande faisant l'objet de la recherche (et non à la date de priorité), mais publié postérieurement à cette date et dont le contenu constituerait un état de la technique pertinent pour la nouveauté

**Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle**

Nouveauté	Revendications 1-5 Revendications aucune	Oui Non
Activité inventive	Revendications 1-5 Revendications aucune	Oui Non
Application Industrielle	Revendications 1-5 Revendications aucune	Oui Non

Il est fait référence aux documents suivants. Les numéros d'ordre qui leur sont attribués ci-après seront utilisés dans toute la suite de la procédure

D1 : EP2285344B1

**1. Nouveauté**

Aucun des documents cité ci-dessus ne divulgue l'ensemble des caractéristiques techniques faisant l'objet des revendications 1-5. Par conséquent, l'objet de celles-ci est nouveau au sens de l'article 26 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

**2. Activité inventive**

Le document D1 est considéré comme étant l'état de la technique le plus proche à l'objet de la présente demande. Il divulgue des compositions comprenant des micro-organismes choisis préférentiellement des microalgues et/ou les extraits de microalgues suivants *Chlorella*, *Spirulina* et *Odontella* (voir paragraphe [0026]) pour la prophylaxie des caries, ou pour la prophylaxie du tartre dentaire ou de la mauvaise odeur buccale. Le document divulgue aussi que celles-ci peuvent être avantageusement utilisés dans l'alimentation et compositions alimentaires, en particulier dans les aliments pour animaux de compagnie. En outre, l'invention concerne des procédés de préparation de tels micro-organismes, fragments, compositions, aliment.

L'objet de la première revendication diffère de D1 en ce que la composition comporte que la spiruline à une dose de 400/600mg/kg dirigée spécifiquement pour le traitement/prévention de l'atteinte de la fluorose dentaire

Le problème est considéré comme la recherche d'un additif alimentaire, à base de micro-organisme, alternatif et qui est plus adapté au traitement de la fluorose chez les rémunérants.

La solution proposée pour résoudre le problème n'est pas considérée évidente.

En Effet, même que documents cités de l'état de l'art D1-D4 renseignent l'intérêt de l'utilisation de certains microorganismes dans l'amélioration de l'hygiène dentaire, aucun de ces documents ne divulgue l'intérêt de l'utilisation de la spiruline en tant qu'agent améliorant ou traitant la fluorose dentaire chez les rémunérants et d'autant moins

l'utilisation de celles-ci à une dose de 400-600 mg/kg.

Ainsi, l'homme du métier ne serait pas arrivé à la solution de la présente demande sans faire preuve d'esprit inventif.

Par conséquent, l'objet des revendications 1-5 implique une activité inventive au sens de l'article 28 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13, parce qu'il présente une utilité déterminée, probante et crédible.

### **3. Application industrielle**

L'objet de la présente invention est susceptible d'application industrielle au sens de l'article 29 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13, parce qu'il présente une utilité déterminée, probante et crédible.