

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial

Concedido el Registro de acuerdo ES
con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

475076

NUMERO

475.076

FECHA DE PRESENTACION

14-NOVIEMBRE-1978



ESPAÑA

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES		
31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
47335/77	14-11-1977	GRAN BRETAÑA
47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	52 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	A23K	
54 TITULO DE LA INVENCION		
" UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN PIENSO PARA GANADO AVIAR "		
71 SOLICITANTE (S)		
UNILEVER N.V.		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE		
Burgemeester s'Jacobplein 1, ROTTERDAM, Holanda		
72 INVENTOR (ES)		
PAUL JAMES DAVIS y JAMES FRANK REYNOLDS, ambos de nacionalidad británica, los cuales han cedido sus derechos para España a la Compañía solicitante.		
73 TITULAR (ES)		
74 REPRESENTANTE		
DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU.		

BAD ORIGINAL

1 Esta invención se refiere a métodos y composiciones para el control de la coccidiosis en el ganado aviar.

5 En esta memoria, el término "ganado aviar" se utiliza para referirse a las aves del orden Galliformes, tales como el avefío doméstico ordinario o pollos (Gallus domesticus), pavos (Meleagris), faisanes (Phasianus), perdiz (Perdix), guaco (Lagopus), gallina de Guinea (Numida), y pavo (Pavo) y también aves del orden Anseriformes como patos (Anas) y gansos (Anser).

10 En todas las especies aviáres criadas por el hombre se encuentran infecciones coccidiales. Estas infecciones son especialmente molestas cuando aparecen en polladas de aves criadas en las modernas condiciones intensivas de crianza. La infección puede extenderse rápidamente a toda la pollada y como
15 mínimo puede producir un escaso desarrollo. Una infección grave puede conducir a la muerte de las aves. Así, durante muchos años se ha dedicado un esfuerzo considerable a tratar de encontrar medidas profilácticas fiables contra estas infecciones y en especial a encontrar la forma en que las aves pueden
20 ser inmunizadas eficazmente contra la incidencia de estas infecciones. El beneficio práctico de cualquier técnica inmunizante eficaz será provocar el crecimiento del ganado aviar al que se comunica la inmunidad, por lo menos en el sentido de
25 contrarrestar los efectos negativos sobre el crecimiento causados por la infección coccidial.

30 Ya se ha establecido el hecho de que el ganado aviar que ha sobrevivido a una infección de coccidiosis retiene cierto grado de inmunidad contra una nueva infección. Este efecto ha sido puesto en práctica en un procedimiento descrito en la memoria de la patente estadounidense n° 3.147.186, donde es in-

1 ducida en el ganado aviar una infección sub-clínica mediante
la administración de un solo inóculo oral que contiene 100-
800 oocistos viables de coccidios esporulados por ave. La
5 infección resultante, reforzada por ciclos secundarios y ter-
ciarios de infección causados cuando las aves absorben otros
oocistos esporulados viables resultantes de los excretados
por las aves infectadas, comunica inmunidad a toda la pollada.
La eficacia de esta técnica es aumentada si se administra una
droga anti-coccidial al ganado aviar a un nivel sub-curativo,
10 reduciendo así los efectos patógenos de los coccidios permi-
tiendo todavía que el ciclo vital del organismo produzca en
los excrementos nuevos oocistos esporulados viables que pueden
ser ingeridos por otros miembros de la pollada. Existe en el
mercado un inóculo líquido oral de oocistos esporulados via-
15 bles de coccidios para este fin. Aunque se trate indudablemen-
te de una técnica eficaz de inmunización del ganado aviar,
requiere que el granjero realice un proceso de inoculación
específica además de todas las tareas normales que es neces-
rio realizar en la cría normal de ganado aviar. Además, en
20 manos inexpertas, existe el riesgo de que se administre por
error una sobredosis peligrosa de oocistos a las aves, que
puede conducir a una infección grave, quizá fatal. Finalmente,
las condiciones de temperatura y humedad de los excrementos
deben ser cuidadosamente controladas para asegurar la esporu-
25 lación de los oocistos excretados, necesaria para inducir los
ciclos progresivos de infección inmunizante. Una realización
del procedimiento descrito en la memoria de la patente estado-
unidense n° 3.147.186 es la administración del inóculo oral
individual de oocistos mediante el agua de bebida o el pienso
30 administrado al ganado aviar. No obstante, ninguna de estas

1 variantes resuelve los problemas de la tarea adicional impues-
ta al granjero o del posible riesgo de sobredosis, ya que to-
daya la preparación del agua o pienso inoculados continúa
siendo responsabilidad del granjero así como su administra-
5 ción en el momento adecuado. Otro inconveniente reconocido en
la memoria de la patente estadounidense n° 3.147.186 en rela-
ción con la administración del inóculo individual a través
de un pienso especialmente preparado es que es mejor esperar
a que el ganado aviar haya aprendido a comer antes de presen-
10 tarles el pienso inoculado. Así, por implicación, el peligro-
so periodo después de salir del huevo, durante el cual los
polluelos no tienen ninguna inmunidad contra la infección
coccidial, puede ser prolongado indebidamente por la adminis-
tración retardada del inóculo.

15 Por lo tanto, creemos que todavía existe la necesidad
de un método de comunicar inmunidad al ganado aviar que no
imponga ninguna tarea o responsabilidad adicional al granje-
ro y que reduzca el riesgo potencial de sobredosis.

20 Mediante la invención, se ha encontrado que el ganado
aviar puede ser inmunizado eficazmente contra la coccidiosis
si, en un pienso dado a las aves de forma continua o por lo
menos frecuentemente, se administra un bajo nivel de oocistos
esporulados viables de una o más especies de coccidios infec-
ciosas para las especies de ganado aviar en cuestión.

25 En consecuencia, la invención proporciona en primer lu-
gar un método para estimular el crecimiento del ganado aviar,
en cuyo método, el ganado aviar se cría con una dieta que com-
prende un material alimenticio nutriente al que se han agre-
gado oocistos esporulados viables de por lo menos una especie
30 de coccidiosa los que son susceptibles las aves, encontrándo-

1 se los oocistos a una concentración solamente suficiente para inducir una infección sub-clínica en el ganado aviar.

5 Para ello, otra realización de la invención es un pienso aviar comercial que comprende un material nutriente y contiene por kilogramo alrededor de 10 a 10.000 oocistos esporulados viables de por lo menos una especie de coccidios a la que son susceptibles las aves.

10 Proporcionando los oocistos a las aves en su pienso regular, las aves son capaces, en efecto, de efectuar una auto-inoculación progresiva controlada. La toma diaria de oocistos viene dictada por la cantidad de pienso comida por cada ave y el nivel de oocistos en el pienso puede ser regulado por el fabricante del pienso cuyas sofisticadas instalaciones de control de la calidad pueden garantizar más fácilmente la imposibilidad de que surja un riesgo de sobredosis. 15 Además, incluyendo los oocistos en su dieta normal, es posible garantizar que los pollos están consumiendo niveles apropiados de oocistos tan pronto como comienzan a ingerir alimento sólido y, por lo tanto, el proceso inmunizante puede 20 comenzar en un momento muy temprano de su vida después de salir del cascarón.

25 Las diferentes especies de ganado aviar padecen infecciones causadas por diferentes especies de coccidios. El averío doméstico (Gallus domesticus) puede ser infectado por cualquiera de los coccidios Eimeria tenella, E. necatrix, E. brunetti, E. maxima, E. acervulina y E. praecox. Los siguientes coccidios están implicados en las infecciones de los pavos (Meleagris): Eimeria melagrimitis, E. dispersa, E. meleagridis, E. gallopavonis, E. adenoides, E. innocua y E. subrotunda. Los patos domésticos (Anas) padecen infecciones cau-

30

1 sadas por Tyzzeria persiciosa y también, según se cree, por
Eimeria anatis que pueden adquirir de los patos salvajes
(Anas platyrhynchos). Los gansos (Anser) pueden padecer infec-
5 ciones causadas por Eimeria anseris, E. nocens y E. parvula
y, además, se cree que los gansos domésticos pueden adquirir
infecciones del ganso del Canadá causadas por Eimeria hermani,
E. striata y E. fulva. Las otras especies aviares antes cita-
das padecen todas ellas infecciones causadas por coccidios
característicos y la invención es igualmente apropiada y efi-
10 caz en el control de las infecciones causadas por los coccidi-
os característicos de estas otras especies aviares. Todos
los niveles de oocistos mencionados en esta memoria pueden
considerarse como referidos a cada una de las especies de
coccidio presentes.

15 Preferiblemente, el pienso aviar de la invención contie-
ne no más de unos 2500 oocistos esporulados viables por ki-
logramo. Aunque pueden obtenerse beneficios positivos median-
te la introducción de los oocistos esporulados en el pien-
so dado a un ave individual en cualquier fase de su vida, es
20 preferible que el ave reciba el pienso conteniendo los bajos
niveles de oocistos esporulados tan pronto como haya salido
del cascarón y comience a alimentarse. A medida que el ave
crece, sus necesidades alimenticias diarias aumentan espec-
tacularmente. Tomando como ejemplo la gallina doméstica
25 (Gallus domesticus), en la fase de "primera alimentación",
el pollito consume aproximadamente 2 gramos de pienso al día.
Al cabo de 10 días, esta cantidad ha ascendido a unos 10 g
al día y al cabo de 30 días, el pollo consume quizá 80 g al
día. Las necesidades nutritivas del ave cambian a medida que
30 se desarrolla y se encuentran en el mercado piensos aviares

1 con diversas formulaciones destinadas a las diferentes fases
de desarrollo de las aves. Típicamente, esta gama incluye
piensos específicamente formulados para "pollitos segunda
5 edad", "crecimiento" y "reproductores/ponedoras". Para garan-
tizar que en cada fase de su desarrollo el ave está consumi-
do el número apropiado de oocistos esporulados de coccidios
al día, puede ser conveniente que los diferentes piensos
contengan diferentes números de oocistos por kg.

10 Para una inmunización óptima, creemos que un pollo recién
salido del cascarón puede consumir alrededor de 1 a 20
oocistos esporulados viables al día. Durante los 10 primeros
días del crecimiento, este nivel debe aumentar hasta unos 2
a 50 oocistos al día. Al trigésimo día, el nivel de oocistos
consumido por día debe ser del orden de 5 a 200 aproximada-
15 mente.

Preferiblemente, un pienso para "segunda edad" contiene
por lo menos alrededor de 500 oocistos esporulados viables
por kg. Preferiblemente, el nivel máximo de oocistos será
alrededor de 5000 por kg e idealmente no más de unos 2000
20 por kg.

En un pienso de "crecimiento", el nivel mínimo de oocis-
tos esporulados viables es preferiblemente alrededor de 50
por kg. El nivel superior de oocistos es preferiblemente al-
rededor de 2000 por kg e idealmente no más de unos 500 por kg
25

En un pienso para "reproductores/ponedoras", un nivel
mínimo apropiado de oocistos esporulados viables es alrede-
dor de 10 por kg. Preferiblemente, el nivel superior de
oocistos no pasa de unos 1000 por kg e idealmente no es ma-
yor de unos 100 por kg.
30

Los oocistos esporulados viables pueden obtenerse infec-

1

tando deliberadamente una pollada de aves donadoras y recogien
do los oocistos de sus deyecciones. Las técnicas para obte
ner oocistos esporulados viables de coccidios propiamente
dichos son muy conocidas en este campo y no forman parte de
5 esta invención. Un procedimiento adecuado es el descrito con
detalle en la memoria de la patente estadounidense número
3.147.186.

5

10

15

20

25

30

Los oocistos pueden agregarse directamente durante la
mezcla del pienso aviar o pueden ser agregados mediante una
pre-mezcla. Alternativamente, puede rociarse sobre el pienso
aviar una suspensión preferiblemente acuosa de los oocistos.
Esto es especialmente útil cuando se requiere un pienso gran
ceado o granulado, debido a que los oocistos no deben ser
aplicados hasta que se han completado todas las etapas que
utilizan calor en la manufactura del pienso. Los oocistos
son muy fácilmente destruidos por el calor y un procedimiento
como el granceado destruiría cualquier oocisto presente en
la mezcla granceada. Debido a la sensibilidad al calor de
los oocistos, el pienso de la invención no debe ser expuesto
a ningún extremo de calor durante el almacenamiento. Además,
los oocistos también son dañados si sufren deshidratación y,
por esta razón, nunca debe dejarse que el pienso se seque
completamente. Preferiblemente, el nivel de humedad en el
pienso debe permanecer alrededor de 6 al 12 % en peso, aunque
pueden utilizarse niveles más altos de humedad cuando no es
tropeen el pienso debido al crecimiento de mohos, etc, duran
te el almacenamiento.

Otra realización de la invención es una pre-mezcla flui
da esencialmente sólida que contiene oocistos esporulados
viables de coccidios distribuidos en un vehículo, que pueda

1 ser agregada como composición seca a una formulación de pien-
so aviar o que puede transformarse en una pasta o suspensión
con agua para su incorporación a un pienso aviar mediante
mezcla o rociada. Preferiblemente, el vehículo es un agente
5 espesante comestible, como un material formador de coloide
aunque también pueden emplearse materiales que formen geles.
Un agente espesante adecuado es el almidón, tal como almidón
de patata, almidón de trigo o almidón de maíz. Sin embargo,
los almidones tienen el inconveniente de que no se mezclan
10 muy fácilmente con el agua y pueden conducir a pastas rela-
tivamente grumosas. Un agente espesante más preferido es
un polisacárido soluble en agua fría, tal como una alquilce-
lulosa, una carboxialquilcelulosa o una hidroxialquilcelu-
losa. Se prefiere especialmente la carboximetilcelulosa só-
15 dica. Alternativamente, pueden utilizarse gomas como goma
de algarroba, goma guar y goma de tragacanto. Si se desea,
pueden emplearse mezclas de cualesquiera de estos agentes
espesantes. El número de oocistos esporulados incorporado
a la pre-mezcla dependerá del número requerido por unidad
20 de peso del pienso aviar y del nivel deseado o permitido del
vehículo en el pienso aviar. Típicamente, una pre-mezcla de
la invención contiene como mínimo 1000 oocistos esporulados
por kg. Preferiblemente, este nivel mínimo será por lo menos
alrededor de 5000 por kg e idealmente por lo menos de 10.000
25 por kg. Una pre-mezcla típica de aplicación general puede
contener alrededor de 50.000 a 500.000 oocistos esporulados
por kg. El nivel máximo no se define fácilmente: una pre-mez-
cla que contenga más de un millón de oocistos esporulados por
kg puede ser útil cuando se necesita un alto nivel de oocis-
30 tos en el pienso pero el nivel de vehículo debe mantenerse en

1

un valor mínimo. Se observará que las pre-mezclas del tipo que acabamos de describir pueden utilizarse también para facilitar la incorporación de otros ingredientes traza esenciales al pienso aviar, por ejemplo aditivos minerales que son importantes, especialmente para provocar la formación de la cáscara del huevo en las aves ponedoras, vitaminas y aminoácidos como lisina y pigmentos carotenoides comúnmente empleados para influir en el color de la yema de los huevos. Si se desea, en una pre-mezcla compuesta pueden incluirse uno o más de estos ingredientes minoritarios junto con los oocistos. Para mantener la viabilidad de los oocistos, la pre-mezcla debe contener alrededor del 6 al 12 % en peso de humedad.

5

10

15

20

25

30

Otra realización de la invención es un concentrado acuoso que contiene oocistos esporulados viables destinados a la adición como tales durante la manufactura de los piensos aviares. Como la pre-mezcla esencialmente sólida que acabamos de describir, este concentrado acuoso puede ser un artículo comercial por sí mismo. Preferiblemente, el concentrado acuoso contiene los oocistos en suspensión. Para este fin, es preferible que el concentrado acuoso también contenga uno o más agentes espesantes comestibles de los tipos que acabamos de describir en relación con la pre-mezcla esencialmente sólida. Son aplicables las mismas preferencias por los polisacáridos solubles en agua fría en general y por la carboximetilcelulosa sódica en particular. En este caso, sin embargo, solamente se requieren pequeñas proporciones de estos materiales, suficientes para favorecer la capacidad de suspensión del concentrado acuoso sin aumentar la viscosidad hasta el punto de que no pueda ser vertido o rociado (de acuerdo con la forma

1 de adición deseada al pienso aviar). En sentido muy amplio,
puede decirse que el nivel óptimo para cualquier agente es-
pesante dado estará comprendido probablemente entre 0,1 y
5 10 % del peso del concentrado acuoso aproximadamente, pero
se observará que las propiedades de los agentes espesantes
comerciales varían mucho de uno a otro. Los niveles de oocis-
tos en el concentrado acuoso vienen gobernados por las mismas
consideraciones que las descritas en relación con la pre-mez-
cla esencialmente sólida; por lo tanto, son apropiados unos
10 niveles estrictamente comparables.

Una ventaja del concentrado acuoso de oocistos que con-
tiene un agente espesante comestible, tal como un polisacári-
do soluble en agua fría, es que el agente espesante se combi-
na con el agua. Cuando el concentrado acuoso se mezcla con
15 los ingredientes secos en la manufactura de un pienso aviar,
la combinación del agua por el agente espesante evita la rá-
pida absorción del agua en el pienso y por lo tanto contribu-
ye a la distribución uniforme de los oocistos en toda la ma-
sa del pienso. Si el agua es absorbida con demasiada rapidez,
20 las concentraciones locales resultantes de oocistos pueden
resultar difíciles de romper mediante el procesado subsiguien-
te sin un riesgo indebido de pérdida de viabilidad debida,
por ejemplo, al calor de fricción.

Debido a la pérdida de viabilidad que puede producirse
25 si se permite que los oocistos esporulados se deshidraten,
puede ser ventajoso encapsular los oocistos dentro de un ma-
terial comestible relativamente impermeable al agua. Eviden-
tamente, el material encapsulante debe ser tal que la libera-
ción de los oocistos en el intestino del animal sea rápida.
30 Optimamente, el material encapsulante debe tener un punto de

1 fusión igual o ligeramente inferior a la temperatura corporal
del ave, que típicamente es alrededor de 40°C. Sin embargo,
pueden utilizarse materiales de punto de fusión más alto
siempre que la cápsula resultante sea suficientemente frágil
5 para ser machacada en la molleja del animal. Se observará
que cuando el material encapsulante ha de ser aplicado en es-
tado fundido, la temperatura y las características de trans-
misión de calor del proceso de encapsulación no deben ser ta-
les que los sensibles oocistos experimenten una pérdida sig-
nificativa de viabilidad debido al sobrecalentamiento. En la
10 práctica, es preferible que el punto de fusión del material
encapsulante esté comprendido aproximadamente entre 35 y
60°C. Las grasas y ceras, como la estearina, con puntos de
fusión dentro de estos límites, son especialmente adecuadas.
15 Una técnica encapsulante apropiada es la co-extrusión del
material encapsulante fundido alrededor de una suspensión
acuosa de los oocistos, empleando por ejemplo el conocido
procedimiento 3M. Preferiblemente, la suspensión acuosa con-
tiene los oocistos en solución salina fisiológica o solución
20 salina tamponada con fosfato.

Aparte de la inclusión de los oocistos esporulados via-
bles, no es esencial que la composición o la forma física
del pienso aviar sea alterada en modo alguno al poner en prác-
tica la invención. Puede utilizarse cualquiera de las formu-
25 laciones de piensos aviares comerciales "completas" o "equi-
libradas" nutricionalmente, actualmente habituales, y el ma-
terial nutritivo del pienso, por lo tanto, puede estar cons-
tituido por cualquiera de las proteínas, hidratos de carbono
y grasas normalmente encontrables en estos piensos. La natura-
30 leza de estos ingredientes comunes, tales como las diversas

1 harinas de pescado, grano molido y otras materias vegetales,
así como aditivos minerales, y los requisitos nutritivos ta-
les como niveles mínimos de vitaminas, aminoácidos y alimen-
5 tos traza, son muy conocidos en este campo y están documenta-
dos en la literatura técnica y estos detalles no forman parte
de esta invención.

El tratamiento y prevención de las infecciones coccidia-
les en el ganado aviar utilizando drogas anti-coccidiales
son muy conocidos. Sin embargo, en una sub-característica
10 preferida importante de la invención, hemos encontrado que
puede conseguirse un control muy eficaz de las infecciones
coccidiales si, además de alimentar al ganado aviar con un
pienso que contiene oocistos esporulados de coccidio de acuer-
do con esta invención, el ganado aviar también es expuesto
15 a una o más drogas anti-coccidiales a un nivel curativo. He-
mos observado que esta combinación de oocistos esporulados
en el pienso y la administración adicional de una droga anti-
coccidial interrumpe el ciclo vital del parásito y evita
eficazmente cualquier transmisión de oocistos infecciosos
20 durante todo el periodo de inmunización. En este aspecto,
esta invención representa otra desviación de los conceptos
descritos en la memoria de la patente estadounidense número
3.147.186, donde se utiliza una droga anti-coccidial a un ni-
vel sub-curativo simplemente para reducir los efectos patóge-
25 nos de los coccidios sin eliminar su capacidad de producir
los oocistos esporulados viables necesarios para inducir nue-
vos ciclos de infección inmunizante sub-clínica. En nuestra
invención, preferimos que la droga anti-coccidial interrumpa
eficazmente el ciclo vital de los coccidios, evitando así la
30 excreción de oocistos viables al ambiente. Así, en la situa-

1 ción ideal, las aves ingerirán solamente los oocistos que han
sido deliberadamente agregados a su dieta. Evidentemente, la
droga anti-coccidial utilizada de acuerdo con nuestra inven-
ción no debe ser una droga que interrumpa el ciclo vital de
5 los coccidios en una fase tan temprana que no tenga lugar en
el intestino un desarrollo suficiente para inducir una respues-
ta inmune apropiada.

Preferiblemente, la droga anti-coccidial utilizada es
una droga en la que la actividad principal está dirigida con-
tra las fases parasitarias del coccidio que aparecen al cuarto
10 día de infección o más tarde. Son ejemplos de drogas anti-coc-
cidiales apropiadas la nicarbazina, la furazolidona, la nitro-
furazona, la nihidrazona, el sulfaquinoxaleno, el sulfantran,
el dinsed, el ormetropín, la sulfadimetoxina y el etopabato.
15 La droga anti-coccidial puede incluirse como ingrediente del
propio pienso o, si se prefiere, puede administrarse indepen-
dientemente al ganado aviar. Pueden emplearse las dosis cura-
tivas habituales recomendadas por los fabricantes.

La invención será descrita ahora, a título de ejemplo
20 solamente, haciendo referencia al control de las infecciones
de las aves domésticas (Gallus domesticus) causadas por
Eimeria tenella, que es una de las especies menos inmunogéni-
cas de todos los coccidios y ciertamente una de las más pató-
genas y virulentas. Cualquiera técnica que sea demostrablemen-
te efectiva en el control de las infecciones de Eimeria tenella
25 será, por implicación, por lo menos igualmente efectiva con-
tra los coccidios menos intratables.

Los dibujos que acompañan a esta memoria, en los cuales:

30 La Figura 1 es un gráfico que ilustra los números de
oocistos ingeridos y excretados por las aves que reciben la

1 dieta inmunizante de la invención;

La Figura 2 es un gráfico donde se compara el porcentaje de aumento de peso de dos grupos de aves después de un intenso ataque con oocistos viables de coccidios, de los que un grupo ha sido inmunizado de acuerdo con la invención y

La Figura 3 es una pareja de diagramas de bloque que ilustran en forma de deyecciones sanguinolentas excretadas los síntomas exhibidos por los dos grupos de aves cuyo porcentaje de aumento de peso se compara en la Figura 2; son características del Ejemplo 1.

EJEMPLO 1

(1) Manipulación de las aves

Unos pollitos broiler Cobb, recién salidos del cascarón, se recogen de una incubadora comercial e inmediatamente se dividen al azar en grupos de 6. Los grupos donde se va a comprobar la producción de oocistos se mantienen en jaulas con un piso de tela metálica abierta a través del cual pueden caer sus deyecciones y los destinados a demostrar la eficacia del pienso que contiene oocistos se mantienen sobre una cama. El lugar donde fueron alojados todos los pollitos había sido tratado a fondo para garantizar la ausencia de oocistos residuales.

(2) Oocistos

Los oocistos se obtuvieron infectando unos pollitos broiler Cobb de 3 semanas de edad mediante una dosis oral de 5000 oocistos por ave. Sus deyecciones se recogieron al cabo de los 6, 7 y 8 días después de la infección, se mezclaron con aproximadamente dos veces su volumen de una solución acuosa al 2,5 % de dicromato potásico y después se homogeneizaron para formar una suspensión uniforme. La suspensión se co-

1 ló a través de una tela de nylon y los oocistos se recupera-
ron del filtrado por flotación salina, como sigue. En primer
lugar, los oocistos se sedimentaron por centrifugación a
1000 x g durante 15 minutos y después el sedimento se resus-
5 pendió en una solución acuosa saturada de cloruro sódico.
Esta se sometió a centrifugación a 500 x g durante 10 minu-
tos y la suspensión de oocistos residual se sacó y diluyó
con 10 volúmenes de agua destilada. Por centrifugación a
1000 x g durante 15 minutos se obtuvo una píldora de oocis-
10 tos. Se repitió todo el proceso de flotación salina y la pí-
ldora de oocistos resultante se recogió finalmente en solu-
ción acuosa de dicromato potásico al 2,5 %. Los oocistos
extraídos fueron esporulados por aireación continua de esta
suspensión durante 4 días a 28°C. Como suspensión de reserva,
15 estos oocistos se mantuvieron a 4°C en solución salina tam-
ponada con fosfato.

(3) Preparación del pienso conteniendo los oocistos

20 Las aves se inmunizaron mediante un "goteo" continuo
de bajos números de oocistos administrados en el pienso. Se
agregaron a un nivel de 1250 por kg de comida. Para garanti-
zar la distribución uniforme en todo el pienso y proporcio-
nar un medio adicional de protección mecánica, los oocistos
se suspendieron primero en una pasta de almidón que después
25 se mezcló con la comida en el bol de una cortadora/mezclado-
ra Hobart. La pasta se preparó formando una suspensión espe-
sa y uniforme de 300 g de harina de trigo con 1000 ml de
agua fría. La pasta se vaporizó durante 30 minutos y después
se enfrió antes de la adición de los oocistos, en una propor-
ción de 6000 por cada 125 ml de pasta. Así se obtuvo material
30 suficiente para tratar 4500 g de pienso. Las aves fueron ali-

1 mentadas ad-libitum con este pienso y su toma de oocistos se calculó a partir de la cantidad de pienso consumida. La línea A de la Figura 1 da el número de oocistos consumidos por cada ave por día de experimento hasta el día 34.

5. (4) Viabilidad de los oocistos

La viabilidad de los oocistos en el pienso fue comprobada a intervalos de 15 días por administración de la dieta a aves susceptibles frescas y después comprobación de su producción de oocistos en los días 6-11 después de iniciar la alimentación con oocistos.

10

(5) Evaluación de las infecciones

15

Los efectos de las infecciones inmunizantes fueron graduados mediante la proporción diaria de descarga de oocistos (promedio por ave), la velocidad de aumento de peso y la presencia de sangre en las deyecciones. La línea B de la Figura 1 muestra la producción diaria media de oocistos de cada ave que consumió el pienso conteniendo oocistos. Los pesos fueron registrados a intervalos de una semana durante periodos de inmunización pero más frecuentemente después del ataque. Se expresaron como porcentaje de aumento de peso desde el comienzo de la inmunización o desde la administración de los inóculos de ataque. Las líneas C y D de la Figura 2 muestran respectivamente el porcentaje medio de aumento de peso de los pollos inmunizados y de control después del ataque.

20

25

Cuando se observó sangre en las deyecciones, se realizó una evaluación bruta sobre la base del número de deyecciones conteniendo sangre fresca que podían observarse. Se utilizó una clasificación de 0 a 4, desde 0 (ausentes) a través de 2 (frecuentes) hasta 4 (uniformemente esparcidas). Los resultados obtenidos están registrados en la Figura 3.

30

1 (6) Inmunización continua en el pienso

Este experimento fué proyectado para establecer si los
oocistos esporulados agregados al pienso en números muy ba-
jos podían sobrevivir y producir infecciones sub-clínicas
5 controladas cuando se administraban a pollos susceptibles.
La inmunidad resultante de este tratamiento, proseguido du-
rante 34 días, fué determinada mediante un ataque intenso
con 500.000 oocistos. Se utilizaron tres grupos de 6 pollos
cada uno. El primero y segundo grupos recibieron la dieta
10 conteniendo oocistos desde 1 día de edad y el tercero reci-
bió una dieta normal exenta de oocistos. Para simular las
condiciones menos favorables que probablemente se encuentran
en las situaciones comerciales, los grupos 1 y 3 se mantuvie-
ron sobre una cama gruesa. El grupo 2 se mantuvo sobre tela
15 metálica de manera que la descarga diaria de oocistos resul-
tante de los oocistos de la dieta pudiera ser determinada fá-
cilmente.

(7) Resultados

Los oocistos sobrevivieron en el pienso durante todo
20 el periodo del experimento, ya que los oocistos pasaron des-
de el día octavo hasta el momento en que se retiró la dieta
inmunizante, como muestra la Figura 1. Asimismo, cuando la
dieta se administró a pollos susceptibles frescos, grandes
números de oocistos pasaron hasta los días 6-11 después de
25 la dosis. Es evidente de la trayectoria de la descarga de
oocistos que se había comenzado a desarrollar una inmunidad
sustancial inmediatamente después que los pollos alcanzaron
las 3 semanas de edad, porque rápidamente se comprobó una
30 creciente descarga de oocistos que se colocó bajo control al
cabo de 25 días, a pesar de la toma continua de oocistos en

1 una proporción creciente. El ataque al cabo de 34 días con
500.000 oocistos produjo solamente un pico trivial de la
descarga de oocistos el día 42.

5 Los oocistos inmunizantes no produjeron efectos pató-
genos detectables, a pesar del hecho de que estos pollos se
encontraban sobre una cama y podían haber absorbido numerosos
oocistos frescos. No se observó ninguna deyección sanguino-
lenta durante todo el período de inmunización sino que, lo
que es más importante, los aumentos medios de peso del grupo
10 de control sin inmunizar y del grupo inmunizado fueron esta-
dísticamente idénticos hasta el día del ataque.

15 El ataque con 500.000 oocistos el día 34 produjo una
grave enfermedad del grupo de control, como puede deducirse
de las diferencias estadísticamente significativas en el
aumento de peso y en la clasificación de las deyecciones
sanguinolentas mostradas en las Figuras 2 y 3. Aparentemen-
te, el grupo inmunizado permaneció inafectado por completo
pero no se produjo mortalidad en ninguno de los grupos.

20 (8) Conclusiones

Las conclusiones más importantes a sacar de estos resul-
tados son que los oocistos agregados a la dieta de esta me-
moria sobreviven por lo menos durante un mes y que, adminis-
trados en esta forma, pueden inducir una intensa inmunidad
sin producir efectos patógenos. A pesar del uso de organis-
25 mos totalmente virulentos, puede explotarse la naturaleza
auto-limitativa única del ciclo vital de los coccidios, que
permite ejercer un control completo sobre el grado de infec-
ción y su patogenicidad consiguiente durante las fases crí-
ticas de inmunización.

30 Evidentemente, los oocistos frescos descargados en la

1 No obstante, en el momento en que se retiró el pien-
so conteniendo los oocistos al cabo de 34 días, las aves
inmunizadas estaban completamente en equilibrio con su me-
dio y eran capaces de resistir una infección masiva de
5 oocistos.

EJEMPLO 2

10 Se preparó un concentrado acuoso tomando aproximada-
mente 6000 oocistos esporulados viables de Eimeria tenella,
obtenidos en la forma descrita en el Ejemplo 1, en 100 ml
de solución salina fisiológica (0,85 % en peso de cloruro
sódico en agua) conteniendo 2,5 g de carboximetilcelulosa
sódica disuelta (Hercules Klucel). Este concentrado se mez-
15 cló con 4500 g de una harina aviar comercial corriente, em-
pleando una cortadora-mezcladora Hobart, vertiendo simple-
mente el concentrado en el bol de la mezcladora giratoria
que contenía la harina, mezclando continuamente hasta que
se obtuvo un producto homogéneo a simple vista. El averío
doméstico criado desde el momento de salir del cascarón con
este pienso presentaba la misma buena inmunidad contra el
20 ataque por E. tenella que la exhibida por los pollos inmu-
nizados del Ejemplo 1.

 En resumen, la Patente de Invención que se solicita
deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

- 25 1. Un procedimiento para la preparación de un pien-
so para ganado aviar, caracterizado por las etapas de:
- Formar una pre-mezcla sólida o líquida que contie-
ne oocistos esporulados viables de por lo menos una especie
de coccidios a los que es susceptible el ganado aviar,
- 30

1 - Dispersar los oocistos en un medio transportador,
y combinar el premezclado con un material de pienso nutrien-
te mediante medios físicos, tal como un aparato cortador-
mezclador o por rociada, a fin de proporcionar un pienso -
5 aviar que contiene por kilogramo del mismo, de aproximadamen-
te 10 a 10.000 oocistos por cada especie de coccidios pre-
sente.

2. Un procedimiento según la reivindicación 1, caracte-
terizado porque la pre-mezcla es una composición esencial-
10 mente sólida, fluída que comprende un vehículo en el cual
se distribuyen los oocistos.

3. Un procedimiento según la reivindicación 2, caracte-
terizado porque el vehículo es un agente espesante comesti-
ble.

15 4. Un procedimiento según la reivindicación 3, caracte-
terizado porque el agente espesante comestible es un poli-
sacárido soluble en agua fría, especialmente carboximetil-
celulosa sódica.

20 5. Un procedimiento según la reivindicación 1, caracte-
terizado porque la pre-mezcla es un concentrado acuoso que
contiene oocistos.

25 6. Un procedimiento según la reivindicación 5, caracte-
terizado porque el concentrado comprende uno o más agentes
espesantes comestibles que contribuyen a mantener los oocis-
tos en suspensión.

30 7. Un procedimiento según la reivindicación 6, caracte-
terizado porque se emplea como agente espesante, un polisa-
cárido soluble en agua fría, particularmente carboximetil-
celulosa sódica.

1

8. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, caracterizado porque el concentrado acuoso se rocía sobre un pienso aviar granceado.

5

9. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque los oocistos se encapsulan en un material relativamente impermeable al agua.

10

10. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita por: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN PIENSO PARA GANADO AVIAR".

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente Memoria descriptiva, que consta de veintitrés páginas mecanografiadas y dibujos adjuntos.

15

Madrid, 14 Noviembre 1.978

BERNARDO UNGRIA

P.P.

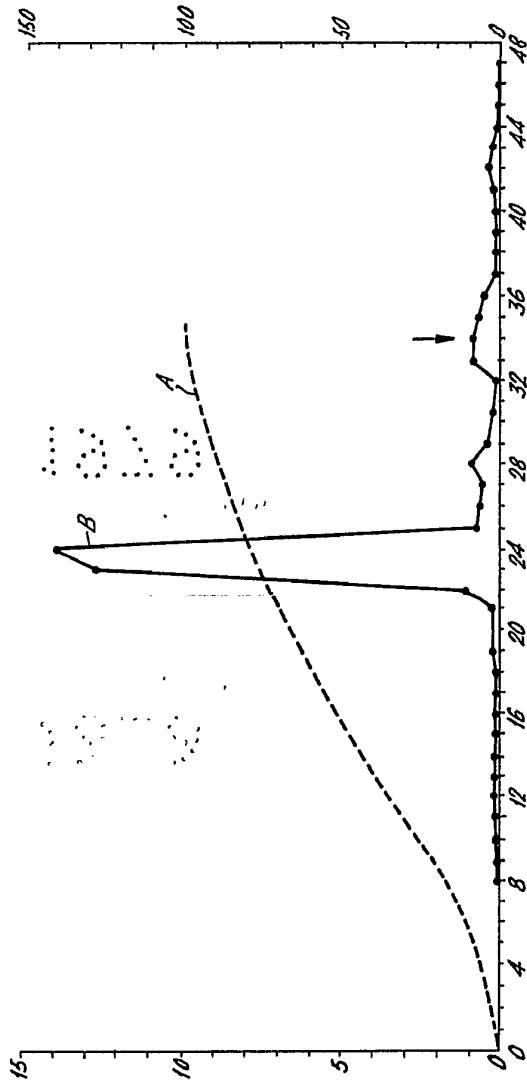


20

25

30

Fig. 1.



ESCALA VARIABLE
Madrid, 14 de Noviembre de 1978
BERNARDO MAGRILA

P.P.

Fig. 1.

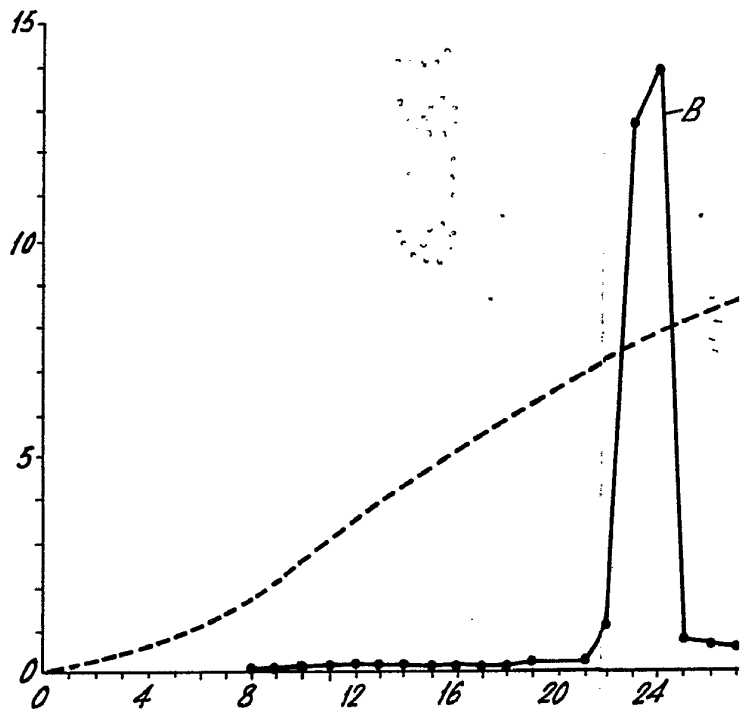
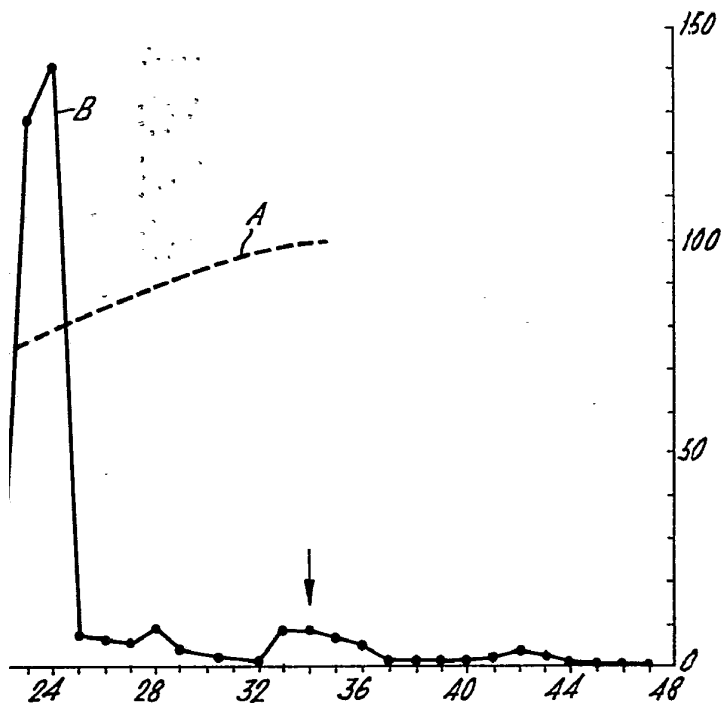


Fig. 1.



ESCALA VARIABLE
Madrid, 14 de Noviembre de 1978
BERNARDO UNGRIA
P.P.

Fig. 2.

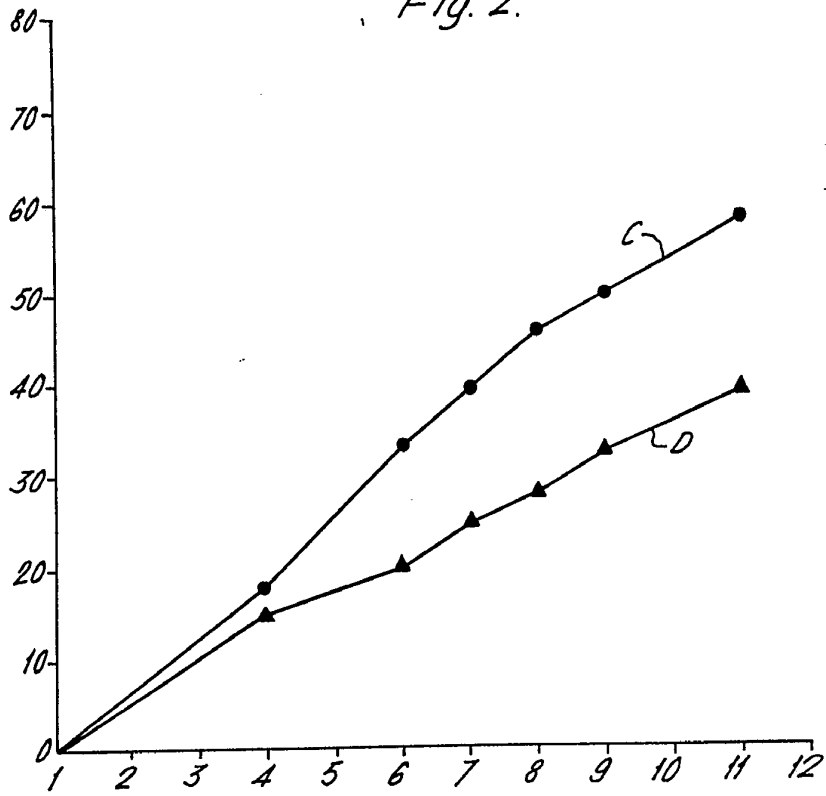
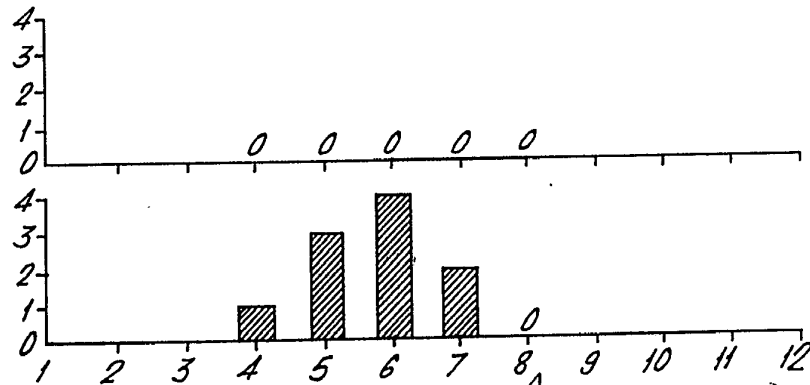


Fig. 3.



ESCALA VARIABLE
Madrid, 14 de Noviembre de 1978
BERNARDO UNGRIA
p.