

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 379 253**

51 Int. Cl.:  
**A61K 35/55** (2006.01)  
**A01N 63/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **03760695 .1**  
96 Fecha de presentación: **19.06.2003**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1531840**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.05.2005**

54 Título: **Composiciones repelentes de alomonas para luchar contra arácnidos**

30 Prioridad:  
**19.06.2002 US 390059 P**  
**19.06.2002 EP 02291534**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**24.04.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**24.04.2012**

73 Titular/es:  
**Institut de Recherche en Semiochimie et  
Ethologie Appliquée  
Le Rieu Neuf  
84490 Saint-Saturnin-d'Apt, FR**

72 Inventor/es:  
**PAGEAT, Patrick**

74 Agente/Representante:  
**de Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 379 253 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Composiciones repelentes de alomonas para luchar contra arácnidos

La presente invención se refiere a composiciones de alomonas derivadas de la glándula uropigial de patos para tratar arácnidos

5 **Técnica anterior**

Los arácnidos son una clase de artrópodos relacionados con insectos y crustáceos, pero que tienen ocho patas, ninguna ala o antena, dos regiones corporales y un mecanismo de respiración de un tubo traqueal o una fuente pulmonar. En la clase de los arácnidos están incluidas las arañas, los ácaros, las garrapatas, arañas de patas largas ("papá piernas largas") y escorpiones.

10 Ciertos arácnidos particulares son una molestia para los vertebrados. Como por ejemplo la araña viuda negra es venenosa y quince veces más tóxica que el veneno de la serpiente de cascabel. La araña viuda negra no tiene ninguna preferencia por ningún anfitrión en particular y, por lo tanto, morderá a cualquier sujeto. Aunque en muchos casos el veneno de una mordedura de una araña viuda negra no es mortal aún existen algunos casos en los que ha ocurrido mortalidad en individuos jóvenes o muy viejos.

15 Esto contrasta con las garrapatas, en las cuales los ratones y los ciervos son los animales más comúnmente infectados los cuales sirven como anfitriones para las garrapatas. Es bien sabido que las garrapatas son la causa de la enfermedad de Lyme que provoca una enfermedad inflamatoria aguda caracterizada por cambios en la piel, inflamación de las articulaciones y síntomas semejantes a la gripe provocados por la bacteria *Borrelia burgdorferi* transmitida por la picadura de una garrapata de ciervo. Es bien sabido que la enfermedad de Lyme ha sido vinculada a un síndrome crónico de sufrimientos difusos, dolores, problemas de memoria y otros varios problemas médicos que pueden ocurrir en seres humanos durante meses e incluso años. El número de casos de enfermedad de Lyme ha aumentado en los últimos años y sólo en Estados Unidos se informó de un alto récord de 17.730 casos en el año 2000.

20 Otra categoría de arácnidos son los ácaros, los cuales son parásitos y específicos del anfitrión. Ciertos ácaros migran desde las aves, roedores, comida, materia vegetal y polvo casero y pueden atacar y causar molestias a los seres humanos. Hay diferentes categorías de ácaros que incluyen los ácaros del norte de las aves de corral (*Omithonyssus sylviarum*), ácaros del pollo (*Dermanyssus gallinae*), ácaros de la rata tropical (*Omithonyssus bacoti*), ácaros del ratón casero (*Liponyssoides sanuineus*), ácaros de los folículos (*Demodex folliculorum*), ácaros del prurito o de la sarna (*Sarcoptes scabiei hominis*), ácaros del prurito de la paja (*Pyemotes tritici*), ácaros del grano (*Acarus siro* L.) y del moho (*Tyrophagus putrescentiae*) y ácaros del polvo casero (*Dermatophagoides* sp.).

25 Los ácaros también infectan a una variedad de otros animales. Los adultos pueden encontrarse en una variedad de localizaciones, mientras que los huevos son usualmente depositados en la superficie del suelo, en grietas y hendiduras y en algunos casos bajo la piel del anfitrión que infestan. Se sabe que los ácaros de la sarna excavadores (*Sarcoptes scabiei*) así como los no excavadores (*Chorioptes Boris*) infestan a muchos animales incluyendo a los hombres. Los ácaros de la sarna felina (*Notoedres cati*), aunque bastante raros son muy contagiosos e infectan gatitos, gatos y conejos. *Psoroptes ovis* es el ácaro que infecta a las ovejas. *Psoroptes bovis* es el ácaro que infecta al ganado vacuno y *Psoroptes cuniculi* es el ácaro que infecta a los conejos. El grupo de ácaros de los *Psoroptes* provoca sarna en los animales infectados.

30 *Demodex folliculorum*, el ácaro con forma de cigarro causa la demodocosis canina. Esta enfermedad de la piel en perros es difícil de tratar ya que los síntomas de la piel pueden dar lugar a una forma escamada o pustulosa. En general, se requiere tratamiento repetido con antibióticos y antihistamínicos. *Dermanyssus gallinae*, comúnmente conocido como ácaro del pollo o ácaro rojo del pollo, es el ácaro rojo de las aves de corral y normalmente se alimenta de aves sólo por la noche. Los gatos y los perros pueden llegar a ser infectados como resultado del contacto con las aves de corral.

35 Por ejemplo, las aves, gatitos, gatos y conejos de compañía pueden ser infestados por los ácaros. Recientemente, se ha informado que los jerbos de compañía también llegan a ser infestados con ácaros del norte de las aves de corral y ácaros del pollo. Los ácaros que chupan la sangre también pueden transmitir encefalitis y pueden causar dermatitis y acariasis del ácaro de las aves de corral.

40 Los ácaros son parásitos y pueden alimentarse de su anfitrión chupando su sangre y causando anemia, purito, dermatitis y sarna. Su naturaleza parasitaria provoca que ciertos ácaros sean una amenaza, no sólo para los seres humanos, sino especialmente para ciertas industrias tales como la industria de las aves de corral.

45 Es bien sabido que el ácaro del norte de las aves de corral (*Omithonyssus sylviarum*) es un parásito externo de las aves de corral con grandes poblaciones capaces de reducir la producción de huevos hasta 10% a 15%. El ciclo de vida total puede completarse en un ave y consiste en huevo, larva, estadios ninfales y adulto. El adulto de ocho patas tiene una longitud de aproximadamente 0,98 mm y es de color rojo oscuro a negro. El ciclo de vida total puede completarse en una semana.

Además del ácaro del norte de las aves de corral, el ácaro del pollo (*Dermanyssus gallinae*) chupa la sangre de las aves de corral durante la noche y permanece recluso durante el día. Estos ácaros son en general de color gris y se vuelven rojos después de alimentarse. Estos ácaros apenas pueden verse sin una lente de aumento. Cuando hay una infestación grave de ácaros, se reduce la ganancia de peso en varias aves de corral así como la producción de huevos. En algunos casos, con una gran infestación de ácaros, las aves jóvenes y las gallinas ponedoras pueden realmente morir por la anemia inducida por los ácaros.

La infestación de ácaros en granjas de aves de corral es un problema grave y da lugar no sólo a una pérdida de la producción de huevos, sino también a una pérdida de los pollos de engorde en sí mismos. La industria de las aves de corral se encuentra actualmente a sí misma perdiendo enormes cantidades de dinero debido a la infestación de ácaros. No hay ninguna solución fácil para este problema, ya que en muchos casos una alimentación higiénica requiere que no puedan usarse todos los productos químicos usados para matar ácaros en presencia de aves de corral vivas.

Para tratar el problema de los ácaros están disponibles muchos productos químicos. Estos productos incluyen Actograd (Virbac), Tugon 80 (Bayer), Sebacil (Bayer) y Etcodex (Hoechst), por mencionar unos pocos acaricidas. Pero, como se mencionó anteriormente, estos productos no pueden usarse en presencia de aves de corral y, por tanto, el criador de pollos tiene que separar los pollos y gallinas de sus gallineros cuando usa estos productos.

Además de acaricidas, hay otras alternativas para tratar a los ácaros y a varios otros arácnidos. Estos tratamientos incluyen tratamiento mediante un gas para desinfectar los gallineros de aves de corral y el uso de polvo de sílice. Sin embargo, el primer método es bastante costoso y requiere que las aves de corral se alojen en un entorno diferente durante el tratamiento. Asimismo, las moléculas gaseosas usadas en este tratamiento son con frecuencia perjudiciales para la salud de los seres humanos y de los animales.

El tratamiento con polvo de sílice puede hacerse en presencia de las aves de corral, pero requiere una muy fuerte dosificación y se está obligado a saturar con polvo de sílice todos los gallineros. Por otra parte, se sabe que el polvo de sílice provoca varias enfermedades del pulmón tanto en aves como en hombres.

Uno de los problemas más prominentes del tratamiento químico y con polvo de sílice es que se sabe que los ácaros habitan en grietas y en hendiduras de los gallineros y, por tanto, son difíciles de matar usando tratamiento con acaricidas químicos y polvo de sílice.

Debido a la infestación de ácaros en aves de corral, los granjeros de aves de corral pierden entre el 10% y el 40% de su negocio. Una vez que los ácaros están presentes en una bandada es imposible exterminar a los ácaros en un intento con un tratamiento. De hecho, en los Estados Unidos, cuando un gallinero es infestado con ácaros en una escala de 10 durante más de cuatro meses, siendo la tasa media de 8, el gallinero de pollos o gallinas es completamente destruido. Después de la destrucción del gallinero de pollos o gallinas, el suelo en el cual se construyó el gallinero, así como 400 metros a su alrededor, es entonces esterilizado y luego se construye un nuevo gallinero. Puede apreciarse que este procedimiento, aunque bastante eficiente para deshacerse de la infestación con ácaros, es muy costoso.

Por tanto, existe una necesidad en esta técnica de encontrar una mejor solución al problema de tratar arácnidos, y especialmente *Dermanyssus gallinae*, en la industria de las aves de corral, sin dañar a otros animales o a los hombres.

Las secreciones producidas por las diferentes glándulas que pueden intervenir en una comunicación química se conocen como señales químicas. Entre las señales químicas están las que participan estrictamente en comunicaciones intraespecíficas, las cuales pueden distinguirse de las que están implicadas en las comunicaciones interespecíficas.

Aquellas señales químicas que participan en comunicaciones intraespecíficas se denominan feromonas. Por definición, las feromonas son sustancias liberadas por el cuerpo que provocan una reacción predecible en otro individuo de la misma especie, sustancia que sirve, por ejemplo, como agente atrayente específico, agente comunicador social, estimulante sexual y semejantes. Se sabe que varias glándulas diferentes producen feromonas en mamíferos macho, tales como las glándulas salivales y las submaxilares, las glándulas paratiroides y las glándulas sebáceas. En las patentes de EE.UU. n°s 6.054.481, 6.077.867 y 6.169.113, se describen varias aplicaciones de las feromonas.

Zeman, en *Experimental & Applied Acarology*, 5 (1988) 163-173, describe una composición de kairomonas derivada de las glándulas uropigiales, las cuales son diésteres de ácidos grasos que son responsables de la alimentación de los ácaros en la piel de las aves de corral.

La glándula uropigial del zambullidor orejudo que produce grandes cantidades de alcanos está descrita por Cheesbrough y Kolattuduky, en *The Journal of Biochemistry*, vol 264 (1998) 2738-2743.

La publicación de patente de EE.UU. 2001/0021378 A1 describe una composición plaguicida para luchar contra los insectos dañinos del orden Acarina, que comprende 0,1 a 20% en peso de al menos un compuesto plaguicidamente

activo, 0,01% a 30% en peso de una o más sustancias señalizadoras seleccionadas del grupo que consiste en feromonas, kairomonas y atrayentes, 40% a 98% en peso de un agente o mezcla absorbente de la radiación UV y aditivos seleccionados del grupo que consiste en agentes espesantes reguladores de la viscosidad, cargas, disolventes y otros agentes auxiliares de la formulación.

5 La patente de EE.UU. 4.853.217 describe 5,9-dimetilheptadecano como un agente atrayente en una composición para luchar contra la polilla de la ampolla de las hojas de peral *Leucoptera scitella*.

Las feromonas sexuales masculinas y femeninas producidas por *Acarus immobilis* son descritas por Sato et al., en *Naturwissen-schaften*, 80 (1993) 34-36.

10 Bohnet et al., describen diésteres de 3-hidroxiácidos grasos que se producen en ánares reales hembra durante la estación de apareamiento.

Aquellas señales químicas que participan en comunicaciones interespecíficas se agrupan en la categoría general de señales aleloquímicas.

15 Las señales aleloquímicas se dividen en general en dos subgrupos y su función afecta a la relación entre el emisor de la señal y el receptor del mensaje. Cuando existe una señal química que es emitida, que está en relación favorable con el emisor, el subgrupo se conoce como una alomona. Por definición, una alomona es una hormona o sustancia producida por una especie que tiene un efecto sobre otras especies, especialmente para beneficiar a la especie que emite. Por ejemplo, las alomonas atrayentes emitidas por ciertas flores pueden atraer a varios insectos que pueden polinizar a estas flores.

20 En contraste, cuando la señal química emitida está en relación favorable con el receptor el subgrupo se conoce como una kairomona. Una kairomona, por definición, es una feromona o sustancia que puede atraer a otras especies y algunas veces incluso a enemigos naturales. Las kairomonas están algunas veces implicadas en la localización de un anfitrión particular por un parásito. Por ejemplo, el ácido láctico que es emitido por la piel de se humano es un kairomona conocida por varias *Culicidae*.

25 Las alomonas y las kairomonas son sustancias naturales que se degradan no causando ningún daño en el usuario. Estos compuestos químicos no causan inmunidad y son seguros.

Así, en un aspecto, la presente invención proporciona una alomona repelente de pato, que puede usarse para tratar las infestaciones con arácnidos y la cual es segura y efectiva y puede usarse en presencia de otros animales, incluyendo a los seres humanos.

30 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición de una alomona repelente de pato para uso en el tratamiento o prevención de los ácaros del pollo o de ácaros del norte de las aves de corral en aves tales como gallinas, pollos, pavos, patos, gansos y polluelos.

Estos y otros objetos se consiguen mediante la presente invención como se pone en evidencia mediante el sumario de la invención, la descripción de las realizaciones preferidas y las reivindicaciones.

### Sumario de la invención

35 La presente invención se refiere así a una alomona repelente de pato. La presente descripción describe una kairomona de pollo atrayente. Las alomonas y las kairomonas se derivaron de la glándula uropigial de patos y pollos, respectivamente.

La composición de alomona repelente de pato de la presente invención puede usarse para repeler arácnidos tales como arañas, garrapatas y ácaros y así impide que estos arácnidos muerdan a o se alimenten de los anfitriones.

40 En otro aspecto, la presente descripción describe una composición de kairomona que puede usarse para atraer arácnidos. Una vez que los arácnidos son atraídos por esta kairomona, que puede además fijarse en una trampa usando un material adhesivo o puede inducir que el ácaro se alimente de un acaricida que está en la trampa, la kairomona induce el comportamiento alimentario y así es posible potenciar que el ácaro quede pegado sobre cualquier clase de superficie adhesiva tales como, por ejemplo, películas de polietileno.

45 En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición de alomona repelente de pato que comprende adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol y/o sus derivados, así como mezclas de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol con uno o más derivados, en la que dichos derivados se seleccionan de ésteres, sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol.

50 En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición de kairomona atrayente de pollo que comprende 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico), octadecano y/o sus derivados y/o sus isómeros, así como mezclas de uno o más de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico), octadecano con uno o más derivados de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico),

octadecano con uno o más isómeros de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico), octadecano y/o uno o más isómeros de los derivados de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico), octadecano.

5 También se describe una composición de kairomona atrayente de pollo que comprende entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de 1-heptadeceno, entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de heptadecano, entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de octadecano y/o derivados ésteres, o sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y octadecano, y/o sus isómeros, así como mezclas de uno o más de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico), octadecano con uno o más derivados ésteres, o sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y octadecano con uno o más isómeros de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico), octadecano y/o uno o más isómeros de los derivados de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico), octadecano.

15 Las composiciones de alomona y kairomona descritas anteriormente pueden tener varias concentraciones de 0,1% a 99,9%. Sin embargo, cuando se usan las concentraciones específicas descritas en la presente memoria está presente un efecto acrecentado. Por otra parte, en la composición de kairomona al menos dos de los compuestos seleccionados de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y octadecano pueden usarse en la formulación y aún posee un efecto de kairomona.

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una alomona repelente de pato como se describió anteriormente para usar para repeler arácnidos. Los arácnidos incluyen, pero no se limitan a, *Dermanyssus gallinae*, una garrapata o un *Ornithonyssus*.

25 En otro aspecto, la presente invención también se refiere a una composición de alomona repelente de pato que comprende entre 45,0% y 55,0% (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y entre 45,0% y 55,0% (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol y/o sus derivados, así como mezclas de adipato de bis(2-etilhexilo) o diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol con uno o más derivados de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol, en la que dichos derivados se seleccionan de ésteres, sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol, para usar en el tratamiento de ácaros de pollo o de ácaros del norte de las aves de corral en gallinas, pollos y polluelos.

30 Además, se describe una composición de kairomona atrayente de pollo que comprende entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de 1-heptadeceno, entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de heptadecano, entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de octadecano, así como mezclas de uno o más de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico), octadecano con uno o más derivados ésteres, o sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y octadecano con uno o más isómeros de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico), octadecano y/o uno o más isómeros de los derivados de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico), octadecano, para atraer *Dermanyssus* en edificios o gallineros.

### Breve descripción de los dibujos

40 La figura 1 es un perfil de un espectro de cromatografía de gases/espectroscopía de masas de los componentes encontrados en las secreciones de patos y pollos de la glándula uropigial.

La figura 2 es otro perfil de un espectro de cromatografía de gases/espectroscopía de masas de los componentes encontrados en las secreciones de patos y pollos de la glándula uropigial.

45 La figura 3 es todavía otro perfil de un espectro de cromatografía de gases/espectroscopía de masas de los componentes encontrados en las secreciones de patos y pollos de la glándula uropigial.

La figura 4 es un gráfico que muestra los tipos de disolventes usados. Chl representa cloroformo, D-eth representa dietil éter, Acet representa acetona y Eth 60% representa etanol al 60%. Quiere decir la proporción de alimentación de ácaros con piel lavada con el disolvente, ■ representa la proporción de alimentación de ácaros después de depositar sobre la piel un producto lavado con la otra piel, □ representa la proporción de alimentación de ácaros después de depositar sobre la piel lavada un producto que fue lavado y enjuagado con agua y ● quiere decir la proporción de alimentación de ácaros para la piel natural de pollo.

55 La figura 5 es un gráfico que muestra el porcentaje de alimentación de *Dermanyssus gallinae* con varias concentraciones de extractos derivados de la glándula uropigial de pollo o pato con diferentes concentraciones de extracto diluido con alcohol solubilizado usando diluciones 1/10 a 1/160. El primer grupo de extractos se ensayó con piel de pollo lavado. El segundo grupo de extractos se ensayó con piel de pato lavada. El tercer grupo de extractos

se ensayó con piel de pollo no lavada y el cuarto grupo de extractos se ensayó con piel de pato no lavada. Estos extractos fueron de la glándula uropigial de pato; uno se solubilizó en alcohol ( ) y el otro en acetonitrilo (■).

5 La figura 6 es un gráfico que ilustra el porcentaje de alimentación de *Dermanyssus gallinae* con extractos de glándula uropigial de pato ( ) o de pollo (■). Solo representa alimentación de los ácaros sobre piel lavada; GL Ca representa la alimentación de los ácaros con piel lavada más el extracto de las glándulas uropigiales de pato; LCa representa la alimentación de los ácaros de piel lavada más el producto de lavados del pato. GI Pou representa la alimentación de los ácaros sobre piel lavada más el extracto de la glándula uropigial de pollo. Lpou representa la alimentación de los ácaros de piel lavada más el producto de lavados del pollo.

10 La figura 7 es un gráfico que muestra el porcentaje de alimentación de *Dermanyssus gallinae* durante un período de 11 días después de que se dio a las gallinas en el pienso la alomona repelente de pato de la presente invención.

La figura 8 es un gráfico que muestra el porcentaje de alimentación de *Dermanyssus gallinae* durante un período de 11 días después de que se dio a los pollos en la comida la alomona repelente de pato de la presente invención.

15 La figura 9 es un gráfico que muestra el porcentaje de alimentación de *Dermanyssus gallinae* durante un período de 11 días después de que se dio a las gallinas en el pienso la alomona repelente de pato de la presente invención y sangre neutra. Por "sangre neutra" se quiere decir la sangre de un pollo que ha sido alimentado con comida normal.

La figura 10 es un gráfico que ilustra el porcentaje de alimentación de *Dermanyssus gallinae* durante un período de 11 días usando la sangre de gallinas suplementada con la alomona repelente de pato de la presente invención.

20 La figura 11 son varios gráficos en días diferentes que ilustran el porcentaje de alimentación de *Dermanyssus gallinae* con seis grupos diferentes ensayados con un placebo o con la alomona repelente de pato de la presente invención colocada en agua o en el pienso del día 0 al día 6.

La figura 12 son varios gráficos en días diferentes que ilustran el porcentaje de alimentación de *Dermanyssus gallinae* con seis grupos diferentes ensayados con un placebo o con la alomona repelente de pato de la presente invención colocada en agua o en el pienso del día 10 al día 20.

25 La figura 13 es un gráfico en días diferentes que ilustra el porcentaje de alimentación de *Dermanyssus gallinae* en polluelos. Representa el testigo; ■ representa la administración de la alomona repelente de pato en el pienso que se paró; ▨ representa la administración de la alomona repelente de pato de la invención a los polluelos.

La figura 14 es un gráfico que ilustra el porcentaje de alimentación de *Dermanyssus gallinae* en piel normal de pollo con plumas y piel de pollo desnuda sin plumas. Representa el testigo; ▨ representa la administración de la alomona repelente de pato de la invención.

30 La figura 15 es un gráfico que ilustra el porcentaje de alimentación de *Dermanyssus gallinae* en polluelos durante un período de veinticuatro días. Representa el testigo; ▨ representa la administración de la alomona repelente de pato de la invención.

35 La figura 16 es un gráfico que muestra el grado de infestación el día 0 antes del tratamiento y el día 35 después del tratamiento con alomona repelente de pato (DRA) de ácaros de pollo para cada una de las siete filas de gallinas tratadas.

La figura 17 es un gráfico que muestra el porcentaje de infestación de ácaros de pollo en cada jaula (coop) para cada una de las siete filas de gallinas el día 0 (sin tratar) y el día 35 después del tratamiento con alomona repelente de pato (DRA).

40 La figura 18 es un gráfico que muestra el número de colonias por jaula (coop) de ácaros de pollo el día 0 antes del tratamiento y el día 35 después del tratamiento con alomona repelente de pato (DRA) en las siete filas de gallinas que se ensayaron.

La figura 19 es un gráfico que muestra el diámetro de los ácaros de pollo el día 0 antes del tratamiento y el día 35 después del tratamiento con alomona repelente de pato (DRA) para las siete filas de gallinas que se ensayaron.

45 La figura 20 es un gráfico que muestra la infestación de los excrementos de las gallinas el día 0 antes del tratamiento y el día 35 después del tratamiento con alomona repelente de pato (DRA) para las siete filas de gallinas que se ensayaron.

La figura 21 es un gráfico que muestra el porcentaje de alimentación de ácaros de pollo en polluelos con la alomona repelente de pato (DRA) extraída de los excrementos de las gallinas. El producto DRA se extrajo con alcohol.

La figura 22 es un gráfico que muestra el porcentaje de infestación de ácaros de pollo en soportes de jaula (coop) para cada una de las siete filas de gallinas el día 0 (sin tratar) y el día 35 después del tratamiento con alomona repelente de pato (DRA).

5 La figura 23 es un gráfico que muestra el porcentaje de alimentación de ácaros de pollo en polluelos que fueron tratados con la alomona repelente de pato (DRA) en diferentes diluciones, extraída de las glándulas uropigiales de gallinas sometidas a autopsia después del tratamiento, el día 35.

La figura 24 es un espectrográfico GC/MS de la alomona repelente de pato (DRA) extraída de gallinas que fueron sometidas a autopsia a los 35 días después del tratamiento. El pico de DRA puede verse en este espectrográfico a alrededor de 13,23.

10 La figura 25 es una curva que muestra la cantidad de producción de huevos de las gallinas tratadas con alomona repelente de pato (DRA). ▲ Representa la edad en porcentaje de los huevos que se depositaron; □ representa el peso medio de los huevos; --- representa el peso de las gallinas vivas (LW); y □ representa el peso teórico de las gallinas vivas (LW).

15 La figura 26 es una curva teórica de la producción de huevos de gallinas normales que no fueron tratadas con alomona repelente de pato (DRA).

### Realizaciones preferidas de la presente invención

Cuando se usa en la presente memoria, el término “arácnidos” engloba todas las clases de Arachnida que incluyen el orden Arachnida, Parasitiformes y Acarini. Así, en la clase Arachnida se incluyen las arañas así como todos los tipos de ácaros, que incluyen los subórdenes de Mesostigmata, Astigmata y Prostigmata.

20 Cuando se usan en la presente memoria, las palabras “ave” y “aviar” se usan intercambiamente y engloban a cualquier animal de sangre caliente con plumas y alas que pone huevos y usualmente es capaz de volar. Ejemplos de aves incluyen, pero no se limitan a, polluelos, pollos, gallinas, patos, gansos, pavos y semejantes.

Por “kairomona” se quiere decir un compuesto semioquímico que es producido por un organismo para inducir una respuesta en un organismo de otra especie. Produce una respuesta que es desfavorable para el emisor.

25 Por “alomona” se quiere decir un compuesto semioquímico que es producido por un organismo para inducir una respuesta en un organismo de otra especie. Produce una respuesta favorable para el emisor. Por ejemplo, algunas plantas producen alomonas que repelen a los insectos y evitan que se alimenten de ellas.

Mediante el término “disolución” se quiere decir un sólido que se dispersa mediante un líquido disolviéndose en él o estando en suspensión.

30 Mediante “composición reforzante” se quiere decir una composición activa que es específica especie-especie en aves y que puede usarse para reforzar o actuar sinérgicamente con la composición de alomona o kairomona para aumentar la efectividad de la composición en especies específicas.

35 Cuando se hace referencia a las mezclas de los compuestos descritos en la presente memoria con uno o más de sus derivados y uno o más isómeros se quiere decir que la composición puede incluir sólo, por ejemplo, adipato de bis(2-etilhexilo) y un derivado alcohol de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol o un derivado alcohol de adipato de bis(2-etilhexilo) y un isómero del derivado alcohol de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol. Los derivados e isómeros a los que se hace referencia en la presente memoria tienen los mismos porcentajes en peso que se mencionaron para sus contrapartidas químicas. Por ejemplo, los derivados e isómeros de adipato de bis(2-etilhexilo) de aproximadamente 45,0% y 55,0% (% en peso/% en peso) y de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol de aproximadamente 45,0% y 55,0% (% en peso/% en peso), tienen la misma concentración de entre 45,0% y 55,0% (% en peso/% en peso). La misma lógica también aplica a la composición de kairomona.

Cuando se usa en la presente memoria, el término “isómeros” incluye isomerismo estructural e isomerismo espacial y se refiere a los isómeros de la composición de alomona y de la composición de kairomona, así como a sus derivados.

45 Más específicamente, la presente descripción describe la identificación de una composición de alomona y una composición de kairomona que se derivan de secreciones de alrededor de la glándula uropigial de aves.

50 La composición de alomona de la presente invención comprende una mezcla de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol y/o sus derivados y/o mezclas de adipato de bis(2-etilhexilo) o diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol con uno o más derivados de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol, en la que dichos derivados se seleccionan de ésteres, sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol.

La composición de alomona de la presente invención comprende una mezcla de entre 45,0% y 55,0% (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y entre 45,0% y 55,0% (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol y/o sus derivados y/o mezclas de adipato de bis(2-etilhexilo) o diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol con uno o más derivados de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol, en la que dichos derivados se seleccionan de ésteres, sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol.

La composición de kairomona descrita en esta descripción comprende una mezcla de entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de 1-heptadeceno, entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de heptadecano, de aproximadamente 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de octadecano y/o sus derivados y/o sus isómeros y/o mezclas de uno o más de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico), octadecano con uno o más derivados ésteres, o sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y octadecano con uno o más isómeros de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y octadecano y/o uno o más isómeros de los derivados de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y octadecano.

Las composiciones de alomona y kairomona descritas anteriormente pueden tener concentraciones variables de 0,1% a 99,9%. Sin embargo, cuando se usan las concentraciones específicas descritas en la presente memoria se presenta un efecto acrecentado. Por otra parte, en la formulación de la composición de kairomona pueden usarse al menos dos de los compuestos seleccionados de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y octadecano y aún posee un efecto de kairomona.

Las composiciones de alomona o kairomona también pueden unirse a un soporte químico siempre que se preserve la estructura bioactiva de la composición. Tales moléculas soporte incluyen, pero no se limitan a, resinas, liposomas, compuestos corona, proteínas soporte, cualquier clase de polímero y moléculas semejantes.

Las composiciones pueden usarse en su forma pura, así como sus formas derivadas tales como ésteres, o sales, así como alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas. En la presente descripción también pueden englobarse isómeros de las formas puras y derivadas. Estos derivados o isómeros pueden reemplazar a uno o más o a todos los componentes químicos en las composiciones de la presente descripción y tienen los mismos efectos.

En otro aspecto, la presente invención comprende la composición en disolución. Así, la presente invención proporciona en disolución entre 45,0% y 55,0% (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y entre 45,0% y 55,0% (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol de una alomona de pato repelente de *Dermanyssus* y/o sus derivados, y/o mezclas de adipato de bis(2-etilhexilo) o diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol con uno o más derivados de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol, en la que dichos derivados se seleccionan de ésteres, sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol. En la presente memoria también se describe una composición en disolución de una kairomona de pollo atrayente de *Dermanyssus* que comprende entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de 1-heptadeceno, entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de heptadecano, entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y entre 23,5% y 26,5% (% en peso/% en peso) de octadecano y/o sus derivados y/o sus isómeros y/o mezclas de uno o más de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico), octadecano con uno o más derivados ésteres, o sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y octadecano con uno o más isómeros de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y/o uno o más isómeros de sus derivados.

Estas composiciones y disoluciones se usan separadamente como una composición repelente o atrayente.

La composición puede estar en forma de una disolución, un aerosol para pulverizar, un gel, una matriz de liberación lenta, un champú, un jabón, una loción, una pomada y semejantes.

La disolución y las composiciones de alomona descritas en la presente memoria también pueden introducirse en el pienso y ser alimento para las aves y otros animales. También pueden introducirse en agua y ser bebidas por las aves y otros animales.

La concentración de las composiciones de alomona y kairomona anteriormente mencionadas puede variar dependiendo de la forma final de uso. Sin embargo, las concentraciones de estas composiciones que se utilizan y su concentración pueden averiguarse y analizarse según métodos puestos de manifiesto en la presente descripción.

Las composiciones de alomona y kairomona pueden diluirse en cualquier disolvente no acuoso para formar la disolución descrita en la presente memoria. Disolventes tales como alcohol, dietil éter, cloroformo, etanol, benceno, alcohol propílico, isopropanol, 2-propanol, acetona, polisorbato 80 y semejantes. También pueden usarse combinaciones de estos disolventes.

Cuando las composiciones se administran en la comida, en general se disuelven en una disolución acuosa que pueda ingerirse, tal como agua, o en un aceite vegetal o animal, o en cualquier clase de producto graso usado para



preparar comida para animales o para seres humanos.

La kairomona de pollo atrayente de *Dermanyssus* también puede colocarse sobre un papel pegajoso, tal como papel celulósico, o en una caja que puede atraer y atrapar a los arácnidos. Además de la kairomona atrayente también se usa un adhesivo con el fin de atrapar. Tal adhesivo puede ser un adhesivo natural o uno sintético. Los adhesivos típicos naturales incluyen almidones y almidones modificados. Los adhesivos sintéticos que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, poliacrilatos, poli(cloruros de vinilo), silicona, uretanos, copolímeros de estireno, poli(acetatos de vinilo) y semejantes. La capa adhesiva es en general de un espesor entre 0,051 cm y 1,27 cm.

La caja o recipiente de atrapamiento puede fabricarse de cualquier material tal como cartón para uso interior o plástico o polímeros para uso exterior. La kairomona atrayente se extiende por todo el interior y el recipiente o caja tiene una o más pasillos de entrada tal que los arácnidos pueden entrar libremente y quedar atrapados por la sustancia adhesiva. La concentración de la kairomona es de aproximadamente 0,015 ppm a 0,5 ppm en esta aplicación para el recipiente.

Las presentes composiciones de alomona pueden aplicarse a una variedad de objetos con los que los arácnidos entran en contacto con paredes, tiendas de campaña, camas, alfombras, ropas y materiales semejantes. Por otra parte, la presente composición de alomona puede aplicarse tópicamente sobre animales o seres humanos para repeler arácnidos tales como ácaros, garrapatas, arañas y semejantes.

La presente descripción también describe un método para repeler arácnidos, comprendiendo dicho método administrar una cantidad repelente de una alomona repelente de pato a un animal que necesite tal tratamiento. En la categoría de animal está el hombre ya que los ácaros de pollo son parásitos zoonóticos y es efectivo evitar la alimentación en seres humanos.

La presente descripción incluye un método para tratar o prevenir los ácaros de pollo o los ácaros del norte de las aves de corral en gallinas, pollos, patos, pavos, gansos y polluelos, comprendiendo dicho método administrar a gallinas, pollos o polluelos que necesiten tal tratamiento una cantidad farmacéuticamente efectiva de una alomona repelente de pato que comprende aproximadamente 45,0% a 55,0% (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y aproximadamente 45,0% a 55,0% (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol y/o sus derivados, y/o sus isómeros, y/o mezclas de adipato de bis(2-etilhexilo) o diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol con uno o más derivados ésteres, o sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol con uno o más isómeros de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol y/o uno o más isómeros de los derivados de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol.

En aún otro aspecto, la presente invención incluye un método para atraer *Dermanyssus* en edificios o gallineros, que comprende introducir en el edificio o gallinero una kairomona atrayente que comprende aproximadamente 23,5% a 26,5% (% en peso/% en peso) de 1-heptadeceno, aproximadamente 23,5% a 26,5% (% en peso/% en peso) de heptadecano, aproximadamente 23,5% a 26,5% (% en peso/% en peso) de 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y aproximadamente 23,5% a 26,5% (% en peso/% en peso) de octadecano y/o sus derivados y/o sus isómeros y/o mezclas de uno o más de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico), octadecano con uno o más derivados ésteres, o sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y octadecano con uno o más isómeros de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y octadecano y/o uno o más isómeros de los derivados de 1-heptadeceno, heptadecano, 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y octadecano, atrayendo de este modo a *Dermanyssus*.

Las composiciones anteriormente descritas se descubrieron después de un análisis detallado de las composiciones químicas obtenidas de secreciones de la glándula uropigial de patos y pollos.

Más particularmente, este procedimiento implica restregar el área uropigial de patos y pollos con una compresa estéril y analizar la composición de las secreciones por cromatografía de gases/espectroscopía de masas. A partir de los cromatogramas, las composiciones químicas que prevalecieron en las secreciones se analizaron adicionalmente usando una base de datos en un ordenador, la cual es conocida en la técnica, y se determinó la composición química de la composición de alomona y de la composición de kairomona.

Con el fin de ilustrar la presente invención y sus ventajas se dan los siguientes ejemplos específicos.

#### **Ejemplo 1**

##### **Aislamiento y análisis para identificar alomonas y kairomonas de pollos y patos**

Las muestras se obtuvieron de patos y pollos aplicando una compresa estéril a la glándula uropigial o a la glándula de la cola, y las secreciones de esta glándula se recogieron en la compresa. La compresa se colocó inmediatamente en un matraz que contenía 10 mL de diclorometano y el matraz se agitó varias veces tal que la secreción se desorbiera.

Después de obtener las muestras de 10 patos y 16 pollos, se tomaron 5 mL de disolvente (acetonitrilo y diclorometano) de cada una de las muestras de la misma serie para formar una muestra combinada. La muestra combinada de 15 mL se concentró entonces 10 veces evaporando bajo una corriente de aire hasta 1,5 mL.

5 A continuación, la muestra se analizó por cromatografía de gases/espectroscopía de masas (GC/MS) usando un equipo Turbo Mass GC/MS de Perkin-Elmer. La columna utilizada fue una JW tipo DB 5 MS que tenía una longitud de 30 m, una anchura de 0,25 mm y una película de 0,25  $\mu$ m. La división ("split") usada fue 1/20 y el período de división/sin división usado fue 45 segundos. El volumen de inyección fue 2,0  $\mu$ L.

La detección se efectuó por impacto usando un impacto electrónico positivo ( $EI^+$ ) a una energía de 70 eV a 180°C. Esta técnica se usó para separar las moléculas de una manera reproducible y característica.

10 A continuación se interrogó a una base de datos conocida en la técnica para que interpretara qué moléculas en las muestras eran las más próximas a los espectros obtenidos.

Para confirmar la estructura de diferentes moléculas, se realizó luego una ionización química positiva ( $CI^+$ ) en metano. Esta técnica es conocida en la técnica.

15 Los perfiles de los dos diferentes cromatogramas que se obtuvieron fueron diferentes para el pato y el pollo. En el pollo se encontró una composición de una kairomona atrayente. Por el contrario, en el pato se encontró una alomona repelente, como se indica más adelante en la tabla 1.

Los resultados de los cromatogramas se encuentran en las figuras 1 a 3, para pollos y patos, respectivamente.

**Tabla 1**

Composición	Aplicación	Masa molar g/mol	Tiempo de retención en minutos
Diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol	Alomona	286	13,37
Heptadeceno-1-ol	Kairomona	254	17,57
Heptadecano/ heptadeceno	Kairomona	240/238	17,61
Esteroides	Alomona	284	17,80
9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico)	Kairomona	268	18,52
Octadecano/octadeceno	Kairomona	254/252	18,65
Esteroides	Alomona	312	19,60
Adipato de bis(2-etilhexilo)	Alomona	370	21,15

20 Después de un examen completo de los cromatogramas, la kairomona atrayente en pollos estaba compuesta por la siguiente composición:

Aproximadamente 23,5% a 26,5% (% en peso/% en peso) de heptadeceno-1-ol

Aproximadamente 23,5% a 26,5% (% en peso/% en peso) de heptadecano/heptadeceno

Aproximadamente 23,5% a 26,5% (% en peso/% en peso) de 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico)

25 Aproximadamente 23,5% a 26,5% (% en peso/% en peso) de octadecano/octadeceno.

Después de un examen completo de los cromatogramas, se encontró que la alomona repelente de patos estaba compuesta por la siguiente composición:

Aproximadamente 45,0% a 55,0% (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo)

Aproximadamente 45,0% a 55,0% (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol.

30 Las concentraciones específicas de kairomonas y alomonas que se han puesto de manifiesto anteriormente fueron usadas en todos los ejemplos que siguen.

**Ejemplo 2****Selección de la opción de disolventes**

Las moléculas presentes sobre la piel son esencialmente liposolubles y para extraerlas es necesario usar un disolvente orgánico. Sin embargo, los disolventes orgánicos son extremadamente irritantes para la piel y existe riesgo de alterar la textura cutánea, lo cual podría inducir una modificación del comportamiento en un parásito. Por lo tanto, se realizaron los siguientes experimentos para ensayar diferentes disolventes y para identificar aquéllos que no alteren la textura cutánea de la piel, así como que sean menos nocivos para la piel así como para el parásito o arácnido.

Se ensayaron cuatro disolventes diferentes; a saber, cloroformo, dietil éter, acetona y etanol al 60%. Para cada disolvente, la variación de la cantidad de *Dermanyssus gallinae* que se alimentaba se evaluó para un parche extirpado de piel de pollo lavada con el disolvente particular y para la piel natural.

Cada piel se lavó tres veces con 0,5 mL de disolvente. En un primer grupo, la piel se lavó *in vitro* y a continuación alimentó a los arácnidos (*Dermanyssus gallinae*). En un segundo grupo, se colocó una parte alícuota de 0,5 mL de disolvente sobre la piel ya lavada y se permitió que se evaporara. En un tercer grupo, la piel se lavó en un líquido obtenido después de lavar una piel de pollo o pato diferente. Para etanol al 60%, después de lavar y dejar que este disolvente se evaporara, la piel se lavó de nuevo dos veces con 0,5 mL de agua.

Los resultados se muestran en la figura 4. Está claro por esta figura que el etanol al 60% debe usarse como disolvente ya que existen sobre la capa sebácea de la piel de pollo una o más sustancias que atraen a *Dermanyssus gallinae* para que se alimente.

**Ejemplo 3****Ensayos con los extractos**

En este ejemplo, la piel de pollos y patos se utilizó para buscar la presencia de kairomonas y alomonas en estas dos diferentes aves. La piel de los patos y pollos se lavó con 0,5 mL de etanol al 60% tres veces y se recogieron las partes alícuotas de estos lavados. A continuación, 0,5 mL de las partes alícuotas de los lavados se redepusieron sobre la misma piel otras tres veces y se mantuvo un período de una hora entre cada lavado para permitir que el alcohol se evaporara. Después del tercer último lavado, la piel se lavó una vez con 0,5 mL de agua desionizada.

Se depositaron extractos de la glándula uropigial o de la glándula de la cola sobre la piel de pollo o de pato lavada con etanol. Antes de depositarse, estos extractos se diluyeron 1/20. Esta dilución tiene en cuenta el volumen de la secreción cruda que se encontró sedimentada a lo largo de todo el cuerpo.

Se aplicaron *Dermanyssus gallinae* (30 por tubo) a la piel de pollo o a la de pato. En este experimento se usaron tres tubos, conteniendo cada uno 30 *Dermanyssus gallinae*. Los resultados se muestran en la figura 5. A partir de estos experimentos se concluyó que existen sobre la piel una o más sustancias que potencian la alimentación de los Arcánidos y que es una kairomona. Esta kairomona está presente en la glándula uropigial o de la cola. También existe sobre la piel de un pato una o más sustancias que tienen un efecto repelente sobre los Arcánidos y que también se encuentran en la glándula uropigial o de la cola. Estas sustancias son alomonas.

Extractos de la glándula uropigial del pato se diluyeron 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 y 1/160 con alcohol etílico. Cuatro trozos de papel absorbente se colocaron en una placa de Petri. Sobre uno de los papeles se colocó un conocido acaricida (LD 100 en 12 horas a 1,20 de la dosis prescrita). Sobre el otro papel se colocaron los productos de extracción. Los acaricidas se introdujeron en la placa de Petri. La placa de Petri se cerró y se colocó en un área seca durante 12 horas. Después de 12 horas se contaron los ácaros muertos. Los resultados de los extractos se muestran en la figura 6.

**Ejemplo 4****Ensayo de la alomona repelente en polluelos**

Se infestó una jaula con *Dermanyssus gallinae* con un nivel de infestación de 5/8. El máximo observado en la crianza es 6/8. Esto quiere decir alrededor de 60 ácaros por cm<sup>2</sup>.

La jaula se separó en dos compartimentos. Un compartimento contenía sólo el pienso. Esta separación permitió una circulación libre de los ácaros entre ambos compartimentos pero no de los polluelos, los cuales estuvieron restringidos al compartimento que no contenía el pienso. Las dos zonas de la jaula fueron infestadas igualmente con los ácaros de pollo. En este ejemplo, la edad de los polluelos fue de un día.

Los polluelos se separaron en dos lotes. El lote A fue alimentado con un pienso suplementado con alomona repelente de pato (de aquí en adelante DRA) y el lote B con pienso regular el día 1. Al pienso se añadieron 800 ug/200 g de DRA, por tanto, se añadieron 4 mg/kg.

La cantidad de pienso comido por los polluelos fue en promedio de 15 g a 20 g.

Cuatro polluelos en cada compartimento fueron introducidos en la jaula con dos compartimentos. Todos los polluelos muertos fueron inmediatamente extraídos y reemplazados para mantener 4 animales en cada compartimento. El experimento se desarrolló durante 11 días. En la tabla 2 más adelante se muestran los siguientes resultados.

5

**Tabla 2**

	Número de muertes	Número de muertes
Día	Lote A	Lote B
0	0	0
1	4	4
2	4	4
3	3	4
4	0	2
5	0	3
6	0	1
7	0	1
8	0	1
9	0	0
10	0	0
	0	0
Muertes totales	11	20

Los resultados anteriores prueban la eficacia de la protección de DRA en pienso para polluelos contra los ácaros del pollo.

### Ejemplo 5

#### 10 Ensayo de la alomona repelente en gallinas y pollos de engorde

Se ensayaron diferentes concentraciones de alomona repelente de pato (de aquí en adelante DRA) en piensos de gallinas y pollos de engorde del tipo industrial en una concentración base de 200 ug pienso/animal/día según la tabla 3 mostrada a continuación:

**Tabla 3**

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Dosis de DRA en ug/animal7día	0	32	160	800
Tratamiento	A1	A2	A3	A4

15 Los resultados obtenidos se muestran en las figuras 7 y 8.

Estos resultados muestran que dos concentraciones protegen a las gallinas contra el ataque de *Dermanyssus gallinae* ya que la proporción de alimentación es inferior a 20% y éste es el límite aceptable tolerado en pollos en las granjas. La comparación con la otra concentración y el testigo muestra que la variación es significativa. En efecto, el grupo 3 y el 4 tuvieron una proporción de alimentación inferior a los otros tres grupos (testigo, grupo 1 y grupo 2). Por lo tanto, existe una dosis efectiva de la DRA integrada en el pienso.

20

La pequeña inflexión de las curvas del grupo 3 y 4 el día 8 fue una variación en el protocolo puesto que estos grupos de animales no fueron alimentados *ad libitu* durante el día anterior a este experimento.

Las curvas de las figuras 7 y 8 muestran que los resultados son idénticos entre la gallina y el pollo y, por lo tanto, la

DRA no tiene un efecto diferente sobre sexos diferentes.

Las diferencias estadísticas usando el ensayo permiten comparar los grupos diferentes con el testigo y mostrar las diferencias estadísticas, las cuales son como sigue:

- (1)  $p < 0,0001$  a  $p < 0,005$ , el máximo para el grupo 4 vs el testigo el día 4.
- 5 (2) Existe una diferencia significativa entre el grupo 3 y el 4 el día 6 (pollos), el día 8 (gallinas y pollos) y el día 11 (gallinas):  $p < 0,01$  para cada una de estas comparaciones.
- (3) Para el grupo 4, la variación fue significativamente diferente de los otros tres grupos:  $p < 0,0001$  para el grupo 4 vs el testigo, grupo 1 y grupo 2.

**Ejemplo 6**

10 **Ensayo de la alomona con sangre neutra y DRA**

En este experimento se usó sangre neutra y la piel de gallinas y pollos se suplementó con la DRA ( $p < 0,0007$ ) y se usaron los mismos grupos y el mismo tratamiento que en el ejemplo 4 (véase la tabla). Los ácaros se alimentaron en la misma proporción que previamente en el ejemplo 5. Los resultados se muestran en la figura 9.

15 Hubo diferencias significativas entre el grupo 1 y el grupo 2 y el testigo. Se advierte la similitud de los dos gráficos con variaciones significativas entre el grupo 3 y el grupo 4 el día 8 y el día 11.

**Ejemplo 7**

**Ensayo de la alomona en la sangre**

20 La figura 10 confirma que la DRA no entra en la sangre de los animales ensayados. Este ensayo se efectuó usando un índice sanguíneo de *Dermanyssus gallinae*. Asimismo, las sustancias ingeridas con el pienso pudieron absorberse en el curso de la digestión. El uso de piel neutra con la sangre del animal suplementado con DRA permite demostrar que la DRA se encontró sobre la piel y, por tanto, fue excretada cutáneamente por el animal.

Se indujo a los ácaros a que se alimentaran a través de un trozo de piel normal, pero la sangre propuesta fue una muestra de sangre obtenida de polluelos alimentados con DRA.

**Ejemplo 8**

25 En este ejemplo, la alomona repelente de pato (de aquí en adelante DRA) se incorporó al pienso y al agua y se comparó con un grupo testigo neutro y un grupo placebo. Se colocaron 200 mL de DRA en el agua/animal/día y se pusieron 200 ug de DRA en la alimentación/animal/día. La tabla 4 siguiente ilustra los grupos y sus dosificaciones en este ejemplo. El pollo consumió en promedio aproximadamente 120 g a 150 g de alimento.

**Tabla 4**

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
Dosis DRA en ug/animal/día			00		60	00
Agua	Neutro	Neutro	Neutro	Agua 1	Agua 2	Agua 3
Alimento	Neutro	Alimento 1	Alimento 2	Neutro	Neutro	Neutro

30 Asimismo, los grupos 2 y 4 constituyen los placebos mientras que el grupo 1 es el testigo. Las figuras 11 y 12 del día 0 al día 20 indican los resultados en términos de alimentación hasta el sacrificio de los pollos.

35 La figura 11 indica las diferencias significativas entre el grupo testigo y el grupo placebo comenzando el día 4 para el grupo 3 para todos los ensayos ( $p < 0,0001$  el día 4 y  $p = 0,0025$  el día 20 comparado con el grupo 1. Para el grupo 1 frente al grupo 6,  $p = 0,015$  el día 2,  $p < 0,0001$  el día 4 y  $p = 0,0031$  el día 20). Las diferencias para estos 2 grupos son muy significativas para todos los ensayos.

Por lo tanto, las diferencias entre el grupo 1, el grupo 2 y el grupo 4 son significativamente importantes. Uno advierte una disminución en la proporción de alimentación en los ácaros de pollo cuando se usa DRA.

40 No hay ninguna variación entre los grupos 3 y 6 que demuestre una cinética perfectamente lineal de no alimentación. La variación se advierte para los otros cuatro grupos. Asimismo, la proporción de alimentación disminuye estadísticamente entre el día 8 y el día 10 (siendo el día 10 equivalente al día 12) para el grupo placebo el cual fue diferente del testigo. La variación para el grupo 5 fue notable.

No hubo ninguna diferencia notable entre los dos modos de administración (agua vs pienso) en una dosis promedio

como se refleja en los grupos 3 y 6, lo cual proporciona una buena protección a los animales.

**Ejemplo 9**

**Protección con alomona en polluelos y gallinas**

5 Este ejemplo ilustra el tiempo de aparición de la protección con polluelos en comparación con gallinas. El procedimiento fue el mismo que en el ejemplo 4; es decir, la DRA se añadió al pienso.

Las gallinas consumieron en promedio aproximadamente 120 g a 150 g de pienso, mientras que los polluelos consumieron en promedio aproximadamente 15 g a 20 g de pienso.

Debe advertirse que el polluelo no produce una película cutánea antes de una cierta edad y, por tanto, el tratamiento puede tener un efecto diferente que el de las gallinas y pollos adultos.

10 Los resultados en el día 6 se muestran en la siguiente tabla 5.

**Tabla 5**

Grupo	Alimentación %	Desviación estándar (%)	Valor p
DRA	5,6	5,1	< 0,0001
Placebo	93,3	3,3	

15 Como puede verse a partir de la tabla 5 anterior, la alimentación disminuyó bastante en comparación con el grupo placebo el día 6. Los valores p fueron todos  $p < 0,0001$  justo hasta el día 20 cuando el valor de p fue 0,003. El día 14 se decidió parar el tratamiento con DRA y volver al pienso regular con el fin de observar la cinética de desaparición y el efecto de protección de DRA. El día 6 se observó el siguiente aumento de alimentación como se muestra en la siguiente tabla 6.

**Tabla 6**

Comparación	Alimentación (5)	Desviación estándar (%)	Valor p
Día 14 vs día 16	2,2 vs 15,6	3,8 vs 5,1	0,022
Día 14 vs día 18	2,2 vs 8,9	3,8 vs 3,9	0,101
Día 14 vs día 20	2,2 vs 35,6	3,8 vs 8,4	0,003
Día 14 vs día 22	2,2 vs 24,4	3,8 vs 6,9	0,008
Día 14 vs día 24	2,2 vs 26,7	3,8 vs 12,0	0,028
Día 14 vs día 26	2,2 vs 26,7	3,8 vs 6,7	0,053
Día 14 vs día 28	2,2 vs 51,1	3,8 vs 5,1	< 0,001
Día 14 vs día 30	2,2 vs 66,7	3,8 vs 3,3	0,003

20 Los resultados en la tabla 6 anterior prueban que los polluelos sólo son protegidos después del tratamiento con DRA durante un período entre 0 y 48 horas después de finalizar el tratamiento con DRA. Por lo tanto, es necesario tratar continuamente a los polluelos durante la duración de su crecimiento.

Sin embargo, debe advertirse que la diferencia entre el placebo y aquellos polluelos tratados con DRA es significativa el día 28 ( $p = 0,006$ ) y, por tanto, la protección aún existe el día 28.

25 El día 30, los polluelos se volvieron a tratar. Las figuras 13 y 15 ilustran que el efecto de la protección con DRA es mucho menor el día 30 que 14 días después del final del tratamiento con DRA ( $p = 0,011$  para DRA vs placebo). La reaparición del efecto protector es, sin embargo, casi inmediato ( $p = 0,0008$  el día 32), si se considera que la DRA ha desaparecido.

Por tanto, una vez que se ha detenido el tratamiento con DRA, los ácaros recuperaron su comportamiento alimentario. Inmediatamente después de readministrar el tratamiento se observa el efecto repelente. Por lo tanto, para proteger es mejor mantener la dieta especial con DRA.

30

**Ejemplo 10****Uso de diferentes tipos de piel**

5 En este ejemplo, se trataron con DRA dos (2) tipos diferentes de piel; es decir, piel desnuda y piel con plumas. Las pieles que se trataron fueron las de pollos alimentados con sangre normal o con DRA. La mitad de las plumas de la piel se eliminaron y la mitad se mantuvieron.

La piel desnuda tuvo menos *Dermanyssus gallinae* ( $p = 0,033$  para placebo vs placebo). Parece que las plumas tienen un cierto tipo de atracción para *Dermanyssus gallinae*. Sin embargo, la diferencia entre el placebo y la piel tratada con DRA fue significativa ( $p < 0,0001$  para el placebo vs DRA). Por tanto, parece que las señales químicas parecen “concentrarse” en las plumas.

**10 Ejemplo 11**

Se prepara una disolución de aproximadamente 23,5% a 26,5% (% en peso/% en peso) de heptadeceno-1, aproximadamente 23,5% a 26,5% (% en peso/% en peso) de heptadecano, aproximadamente 23,5% a 26,5% (% en peso/% en peso) de 9-octadeceno-ol-1 (alcohol oleico) y aproximadamente 23,5% a 26,5% (% en peso/% en peso) de octadecano.

15 El interior del recipiente fabricado de plástico y que tiene aperturas está saturado con un material adhesivo de poliacrilato con el fin de atrapar ácaros. La disolución de kairomona se añade entonces al interior del recipiente que se coloca a continuación en un gallinero. Los ácaros que acuden al cebo de la disolución de kairomona son entonces atrapados en el recipiente al cabo de unos pocos días. Luego, el recipiente se elimina.

**Ejemplo 12**

20 En este ejemplo se usa el mismo recipiente con la kairomona que en el ejemplo 11. El recipiente se colocó en una ventana bien fuera de una casa en la que anidaban numerosas arañas viuda negra. Las arañas viuda negra que acuden al cebo de la disolución de kairomona son entonces atrapadas en el recipiente al cabo de unos pocos días. Luego, el recipiente se elimina.

**Ejemplo 13**

25 Se lavó a un perro con un champú que comprendía aproximadamente 45,0 a 55,0 (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y aproximadamente 45,0 a 55,0 (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol. Luego, se hizo caminar al perro a través de un bosque que está generalmente infestado con garrapatas. Luego se buscaron garrapatas en el perro y no se encontró ninguna ya que la alomona del champú repelió a este arácnido.

**30 Ejemplo 14**

Se aplicó el mismo método que en el ejemplo 13, pero se usaron gatos. Luego se buscaron garrapatas en el gato y no se encontró ninguna ya que la alomona del champú repelió a este arácnido.

**Ejemplo 15**

35 Se lavó a un niño con un champú/jabón que comprendía aproximadamente 45,0 a 55,0 (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y aproximadamente 45,0 a 55,0 (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol. Luego, se hizo caminar al niño a través de un bosque que está generalmente infestado con garrapatas. Luego se buscaron garrapatas en el perro y no se encontró ninguna ya que la alomona del champú/jabón repelió a este arácnido.

**Ejemplo 16**

40 Se lavó a un criador de pollos con un jabón que comprendía aproximadamente 45,0 a 55,0 (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y aproximadamente 45,0 a 55,0 (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol. Luego, el criador de pollos entró en el gallinero y trabajó con los pollos, gallinas y polluelos la mayor parte del día. El criador de pollos advirtió que había menos picaduras de ácaros en el cuerpo que sin lavar con el jabón.

**45 Ejemplo 17**

Este ejemplo ilustra la eficacia de la alomona repelente de pato (DRA) cuando se suministra en el agua potable de gallinas ponedoras de huevos que padecen de una infección parásita crónica y masiva por *Dermanyssus gallinae*.

50 El gallinero fue en primer lugar visitado por las personas implicadas en el estudio y se emprendió una inspección visual del gallinero infectado con *Dermanyssus gallinae* estando presente el avicultor jefe del gallinero. El gallinero fue inspeccionado por los investigadores que vestían botas y guantes. Las gallinas se dividieron a continuación en 7

filas en el gallinero y a cada fila se le asignó un número de 1 a 7.

Se requirió al avicultor jefe para que escogiera dos gallinas al azar de cada una de las siete filas de gallinas. Se extrajo sangre de cada una de las gallinas escogidas aleatoriamente y también se realizó una autopsia a las gallinas. Se extrajeron 4 mL de sangre de la vena radial de cada gallina. Parte de la sangre se colocó en un tubo de ensayo que no contenía ningún aditivo químico y la otra parte se colocó en un tubo de ensayo que contenía EDTA. Las muestras de sangre se colocaron luego en un recipiente isotérmico que tenía bloques refrigerantes. Se analizaron el día siguiente en un laboratorio.

Después del muestreo de sangre, las gallinas escogidas aleatoriamente se sacrificaron y se sometieron a una autopsia completa, que incluyó una búsqueda de parásitos externos. Durante la autopsia se extrajo una pizca de la mucosa cecal de la pared del intestino ciego y se colocó en formalina al 10% para finalmente buscar infestaciones de protozoos.

Al mismo tiempo que los investigadores estaban en el gallinero, se hizo un examen en profundidad del gallinero recogiendo y contando el número de arácnidos presentes. Cada fila del gallinero tenía 60 jaulas de gallinas en cada nivel y había tres niveles. Se recogieron colonias de arácnidos visibles y polvo para 20 jaulas. Cada una de las muestras se colocó en frascos herméticos y se llevaron a un laboratorio para determinar la identidad y el número de arácnidos presentes. Las colonias de arácnidos se contaron en 12 jaulas y se midió el mayor diámetro de las colonias de arácnidos en cada una de las 12 jaulas. Finalmente, se emprendió el muestreo de 15 mililitros de excrementos en cada fila debajo de cada fila, los cuales representaban a todos los excrementos de las gallinas en los tres niveles.

Asimismo, durante esta visita los investigadores mostraron al jefe de los avicultores cómo usar el producto llamado P1, el cual tenía 50% (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y 50% (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol, y se les dio un protocolo específico de administración del producto. El tratamiento comenzó después de la primera visita (V1).

#### **Productos utilizados en el tratamiento**

Se usaron tres productos que tenían diferentes análogos de DRA, que representaban el compuesto activo principal, y se colocaron en una disolución acuosa. Las disoluciones no variaron en su naturaleza, pero sólo con respecto a los tensioactivos y conservantes usados. En el tratamiento se utilizaron las siguientes disoluciones:

Disolución 1: una disolución titulada al 4% (% en peso/% en peso) de DRA 50% (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y 50% (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol y aforada a 100 mL con etanol. Este producto se colocó en botellas de agua de 2,5 litros.

Disolución 2: una disolución titulada al 4% (% en peso/% en peso) de DRA 50% (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y 50% (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol que contenía 5% (% en peso/% en peso) de polisorbato 80 y aforada a 100 mL usando etanol. Este producto se colocó en botellas de agua de 5 litros.

Disolución 3: una disolución titulada al 4% (% en peso/% en peso) de DRA 50% (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y 50% (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol que contenía 5% (% en peso/% en peso) de polisorbato 80 y aforada a 100 mL usando agua. Este producto se colocó en botellas de agua de 4 litros.

La primera disolución 1 se presentó al avicultor en V1. Se realizó un testigo usando lotes de dos generaciones sucesivas del producto DRA. Se emprendieron entrevistas telefónicas con el avicultor para tratar problemas asociados con la administración de los productos DRA con los investigadores.

En el curso de una de las entrevistas telefónicas se decidió evaluar la formulación del producto.

#### **Administración del producto**

El producto se administró en botellas de agua. La muy débil miscibilidad de la disolución 1 en agua requirió la atomización en cada botella de agua por el reservorio en cada fila de gallinas. La disolución 1 se colocó en la botella de agua con una jeringa de 50 mL y cada dosis se atomizó a continuación en el reservorio mediante el paso a través de una jeringa que poseía un diámetro exterior de 0,5 milímetros. Esta operación se realizó mañana y noche.

#### **Duración del tratamiento**

El tratamiento se consumió durante un período de 32 días. Durante los primeros 10 días, la primera disolución se usó como tratamiento. Los siguientes 6 días, la segunda disolución se administró como tratamiento y en los 16 días restantes, la disolución 3 se administró como tratamiento.

La cantidad de producto consumida durante este tratamiento de 32 días se muestra en la siguiente tabla 7:



Tabla 7

	Cantidad dada (litros)	Cantidad que quedó (litros)	Cantidad consumida (litros)	Cantidad teórica consumida (litros)	Tasa observada %
Disolución 1	10	2,5	7,5	7	93%
Disolución 2	15	8,4	6,6	4,2	63%
Disolución 3	16	4	12	8,9	74%

La tasa observada por cálculo de las disoluciones 2 y 3 puede explicarse por el método de administración de estas dos disoluciones. Para facilitar la manipulación de estas disoluciones, el avicultor colocó una cantidad variable de estos productos (disoluciones 2 y 3) en un volumen muy pequeño de un cuenco para ensaladas antes de aspirar la dosis que se administró. Así, debido a esta variación se calculó por lo tanto la cantidad teórica que se consumió.

No se dio ningún otro tratamiento para arácnidos durante los 32 días en los que las gallinas fueron tratadas.

Se emprendió una segunda visita (V2) al gallinero después de día 32 de tratamiento. Como en la visita 1, se requirió al avicultor jefe para que seleccionara dos gallinas al azar de cada una de las siete filas de gallinas y se extrajo sangre y realizó la autopsia usando el mismo procedimiento que en la visita 1 con la excepción de no se extrajeron copias del intestino ciego de las gallinas que se sometieron a autopsia. Esta excepción fue debida al hallazgo de ausencia de parásitos después de la evaluación de las muestras del grupo I. Los resultados de la autopsia de la visita 1 en las diferentes gallinas indicaron que existían anomalías macroscópicas en diferentes órganos, de modo que diversas recogidas fueron tomadas para realizar autopsia para un análisis citopático. También se separaron las glándulas uropigiales en la autopsia de la visita 2 para determinar si la DRA estaba presente en las secreciones.

También se extrajeron muestras de cada uno de los diferentes reservorios de agua en los que se colocó el tratamiento. Las muestras se analizaron entonces en un laboratorio para averiguar si la composición química del producto DRA se alteró o no.

Se recuperaron las observaciones realizadas por el avicultor durante el experimento.

**Criterios usados para la evaluación**

La eficacia del producto se evaluó usando tres parámetros: parámetros parasitológicos, parámetros médicos y parámetros zootécnicos.

**Parámetros parasitológicos**

Toda la población de arácnidos se reagrupó y se realizaron ensayos para evaluar el vigor de los arácnidos, el número de arácnidos y la cantidad de infestación en diferentes zonas del gallinero. Se realizaron ensayos *in vitro* para medir la cantidad de inhibición de la alimentación de los arácnidos en presencia de la DRA en las secreciones de la glándula uropigial de las gallinas sometidas a autopsia y se obtuvieron los excrementos en la visita 2. Para cada categoría de los parámetros parasitológicos que se midieron se calcularon los resultados separadamente para cada fila. Se realizó una comparación de los parásitos totales antes y después del tratamiento, resultados que también fueron comparados con los realizados en el laboratorio.

Se observó el comportamiento de alimentación de los arácnidos en un tubo de ensayo y en una jaula con un anfitrión (polluelo), así como el comportamiento social de los arácnidos en las mismas condiciones. También se realizó un análisis de las cutículas de los arácnidos por GC/MS.

**Parámetros médicos**

La infestación por *Dermanyssus gallinae* presenta problemas hematológicos con las gallinas que son infestadas. Es por esto por lo que se extrajo sangre en la visita 1 y en la 2 de 14 gallinas que se escogieron aleatoriamente. A continuación, se realizó el siguiente análisis a las muestras de sangre:

- (1) Hematocrito;
- (2) Recuento de sangre que permite evaluar la relación leucocitos/linfocitos que es un indicador de estrés y se cuantificó el número de granulocitos ya que el recuento de granulocitos es un indicador de infestación de parásitos;
- (3) Electroforesis de las proteínas de la sangre; y
- (4) Concentración de T4 (corticosterona).

Las gallinas a las que se extrajo sangre también fueron sacrificadas, se separó un trozo de la mucosa cecal de la pared del intestino ciego la cual se colocó en formalina al 10% y se realizó una evaluación histopatológica. En las gallinas que fueron sacrificadas en la visita 2 se separaron la pared de la molleja y un lóbulo hepático para clarificar el origen del estado caquéctico el cual es indicativo de un reflujo biliar masivo a la luz de la molleja, observado en ciertas gallinas en la fila 4. Los resultados de este análisis permitieron la evaluación del impacto de los parásitos para la existencia de alimentos oportunistas y proporcionó alguna información relacionada con el estado fisiológico de las gallinas.

### **Parámetros zootécnicos**

Los parámetros zootécnicos que se acometieron en este estudio fueron los siguientes:

- 10 (1) Cantidad de comida consumida;
- (2) Número de huevos que se pusieron;
- (3) Peso de los huevos;
- (4) Número de huevos que se rompieron; y
- (5) Consumo de agua por gallina.

### **Evaluación de los resultados**

Para calcular la cantidad de infestación se acometió una estimación de la superficie lineal total del gallinero así como del material en el gallinero. Después de tomar estas medidas se determinó la medida del diámetro medio de las colonias observadas y de la frecuencia de repetición en zonas similares. Todas estas medidas permitieron el cálculo de la concentración media de arácnidos por  $\text{cm}^2$  para cada gallinero. Este valor se comparó luego en una escala semilogarítmica de 8 unidades. A continuación, se obtuvo el grado de infestación en una escala de 0 a 8. El grado 8 se asignó cuando había más que 400 arácnidos por  $\text{cm}^2$  y es indicativo de la cantidad máxima de infestación de arácnidos en un gallinero.

Para estimar la evolución del número de parásitos, se tomaron siete tipos de medidas diferentes para cada fila, para tener la mejor estimación posible de la evolución de la población parásita del gallinero estudiado. Las medidas que se tomaron fueron:

- 25 (1) El número de colonias por jaula;
- (2) El diámetro de las colonias observadas;
- (3) El grado de infestación de los excrementos del suelo;
- (4) El grado de infestación de los huevos que se recogieron;
- 30 (5) Las infestaciones sobre las estructuras del gallinero (jaulas, tuberías, etc.);
- (6) El número de jaulas que fueron infestadas; y
- (7) El grado de infestación media en cada fila.

Para cada fila y para cada uno de los valores se observó una disminución muy clara de cada uno de los parámetros de los parásitos que fueron medidos. El grado de infestación del gallinero disminuyó de 6,5 a 2 (figura 6). En 5 semanas, usando el producto DRA se mostró una disminución de la infestación por arácnidos a un nivel de infestación de 2.

Las primeras medidas se efectuaron para evaluar directamente el número de jaulas que estaban infestadas con arácnidos, el número de colonias de arácnidos presente y los diámetros de los arácnidos. Estas medidas poseen una doble ventaja ya que pueden obtenerse fácilmente y también sirven como referencia personal al avicultor para estimar su cantidad de infestación en los gallineros. También se informó de medidas basadas en una infestación fuerte o débil. Este dato permite al avicultor estimar la infestación sin prejuicios y determinar si se sobrepasa el nivel de infestación de 2. Por el contrario, si el grado de infestación pasa de 5 ó más, la estimación del avicultor es muy importante y debe iniciarse un tratamiento contra los arácnidos.

En la visita V1 se advirtió que más que 80% de las jaulas estaban infestadas con una media de 2,5 colonias por jaula y que los diámetros de los arácnidos tuvieron un promedio de 5 cm. Después de la visita 2 final, el porcentaje de jaulas que estaban infestadas cayó de 80% a 18% con una promedio de 0,5 por jaula y el diámetro de las colonias cayó de 5 a 1,5 (figuras 17, 18 y 19).

También hubo interés en medir la cantidad de infestaciones de arácnidos en la estructura del gallinero. Para este

tipo de medida, se midió el grado de infestación de las estructuras recogiendo los excrementos y evaluando el número de arácnidos, recogiendo los huevos y contando el número de arácnidos y los arácnidos en otras estructuras del gallinero tales como las paredes, en la alimentación animal y semejantes. Las medidas se tomaron para evaluar si el producto DRA repele solamente a los parásitos de las jaulas, o si también destruye a los ácaros que habitan en los pollos o en su entorno de alimentación.

El grado de infestación de se evaluó recogiendo los excrementos del piso. Los excrementos secos son un lugar privilegiado para que los parásitos se escondan y su evacuación del gallinero aumenta el riesgo de recontaminación de los otros gallineros con los parásitos. Los resultados también mostraron que el producto DRA impide que *Dermanyssus* coma. Una vez que la población de arácnidos se vuelve a formar en medio del gallinero, la recontaminación es inevitable.

La figura 20 muestra los datos obtenidos y la eficacia del producto DRA de la presente invención en el gallinero de los excrementos reunidos, el cual muestra un grado medio de infestación de 5 antes del tratamiento y un grado de infestación inferior a 1 después del tratamiento.

Los excrementos se ensayaron para ver si repelían a los arácnidos en el laboratorio. Los resultados se muestran en la figura 21 en la cual los datos muestran que un extracto de alcohol de los excrementos prevenía que los arácnidos se alimentaran de la piel de un polluelo utilizado para estos ensayos *in vitro*.

En lo que se refiere a los huevos y a las otras estructuras del gallinero se observó una clara disminución del porcentaje medio de infestación de arácnidos. Para la infestación de los huevos, en la primera visita la tasa de infestación fue 64% y cayó a 14% después del tratamiento con el producto DRA de la presente invención. Para la infestación de las estructuras del gallinero se determinó una tasa de infestación de 57% en la primera visita y cayó a 12% después del tratamiento (figura 22).

De manera global, en los gallineros se observó una caída de la cantidad de parásitos de 6,5 a 2.

#### **Evaluación de la población parásita**

Se evaluaron las ninfas número 2 ya que es un estadio intermedio en el desarrollo de los arácnidos en el que las ninfas número 2 son muy sensibles al ayuno, así como el hecho de que su presencia avisa de una expansión de la colonia. El análisis de la población de adultos clarifica la dinámica evolutiva de las colonias. En particular, el porcentaje de ninfas hembra tipo 2 es muy interesante. Estas hembras son mayores que las hembras tipo 1 y tienen una coloración marrón rojiza a negra. También poseen un huevo que es visible a simple vista. Este huevo no es puesto es ausencia de adultos macho sino en presencia de hembras tipo 1 y produce un nuevo macho para el origen de una nueva colonia. Las hembras mueren después de poner su huevo. Su prevalencia entre los adultos avisa de un nuevo estado de degradación de las colonias con la desaparición de los dos sexos. Esta situación es seguida por una dispersión de las colonias.

En la visita 1, la demografía de los parásitos en el gallinero correspondía efectivamente a una demografía que estaba en expansión con una mayoría de deutoninfas en el estado de deutoninfa. En la segunda visita, la población parásita estaba en una demografía de regresión. Notablemente, más que 87% de los arácnidos presentes en la colonia después de la segunda visita estaban muertos en comparación con menos que 7% después de la primera visita. Asimismo, en el muestreo de la visita 2 no hubo ninfas en estadio N2. Esto indicó que la población de ácaros fue detenida y estaba en regresión. También se observó durante la visita 2 que había numerosas hembras tipo 2. Ninguna de las hembras tipo 2 se encontró en el centro de las colonias, lo cual es su costumbre usual. Las hembras tipo 2 fueron erráticamente encontradas en una pila alrededor de las ninfas tipo 1.

Otro parámetro fue medir el número de ácaros que se estaban alimentando y que, por lo tanto, tenían un color rojo. En la visita 1, el 80% de la población tenía un color rojo. En la visita 2, sólo la fila 4 tuvo varios ácaros con color rojo.

#### **Ensayos de parásitos in vitro**

Se ensayaron tres parámetros: la presencia de DRA en los excrementos, la presencia de DRA en las secreciones de la glándula uropigial de las gallinas que fueron sacrificadas en la visita 2 y la sensibilidad de los ácaros presentes en el gallinero.

#### **Presencia de DRA en los excrementos**

Se extrajeron usando alcohol excrementos de gallina recogidos del gallinero. Los extractos de los excrementos de gallina que fueron tratados con DRA se aplicaron a la piel de los polluelos y protegieron a los polluelos contra *Dermanyssus gallinae*. La piel de los polluelos testigo fue picada por los ácaros en el 90% de los casos mientras que la piel de los polluelos tratados con extracto alcohólico de excrementos de gallina fue picada en el 20% de los casos.

#### **Presencia de DRA en secreciones uropigiales de gallinas en la segunda visita**

Las glándulas uropigiales de las gallinas que fueron sacrificadas después de la visita dos fueron separadas y

ensayadas respecto a la presencia de DRA.

La figura 23 muestra los resultados cuando la DRA se ensayó en diferentes concentraciones. Una dilución de 160 fue muy repelente. Una dilución de 320 también fue eficiente y puede concluirse que el producto DRA no sólo estaba presente en la glándula uropigial de la gallina, sino también en una concentración que normalmente se encuentra en la glándula de patos.

### Otros ensayos

#### Ensayos de resistencia a otros acaricidas

Se ensayaron otros acaricidas respecto a su eficiencia y los resultados se muestran en la siguiente tabla 8:

**Tabla 8**

Material activo	Muertos (%) dosis 1X	Muertos (%) dosis 4X	Muertos (%) dosis 8X	Muertos (%) dosis 16X	Muertos (%) dosis 32X
Triclorfón	20,4	39,7	34,4	80,8	94,4
Amitraz	97,4	98,5	100,00	100,00	100,0
Azametifos	30,0	43,3	54,8	100,00	97,8
Afame-trina	48,1	85,2	97,0	98,9	99,6
Carbarilo	19,3	37,8	64,4	91,1	97,8
Testigo	0,4	0,7	0,0	0	1,1

Las dosis se escogieron de 1 a 32 veces la dosis comercialmente dada en las instrucciones del producto. Amitraz fue el acaricida más eficiente en la dosis prescrita. Todos los otros acaricidas ensayados tuvieron una eficacia de menos que una tasa de mortalidad de 50%. A cuatro veces la dosis, la afame-trina tuvo una tasa de eficacia de 85%. Sin embargo, en estos productos comerciales sólo fue efectiva 16 veces la dosis recomendada para matar a los ácaros del pollo. Incluso si los productos eran efectivos se advirtió que las colonias tuvieron una tendencia a volver a formarse después del tratamiento.

#### Alimentación de ácaros recogidos en la visita 2 y crecimiento demográfico en el laboratorio

Los resultados mencionados en esta sección son sólo cualitativos y sólo son una comparación de la evolución del grado de infestación de una jaula de gallinas usando un anfitrión viviente. Se colocaron dos poblaciones de ácaros que tenían un tamaño similar (grado 4) en dos jaulas de pollos distintas con un polluelo vivo. La primera población fue el testigo al que no se administró ningún tratamiento con DRA y los *Dermanyssus* que se usaron en este ejemplo se obtuvieron de una fuente diferente. La segunda jaula de pollos contenía *Dermanyssus* que se recogieron del gallinero que fue tratado después de la visita 2.

En dos semanas, la población testigo tuvo un aumento de dos puntos en la escala de graduación respecto a la población de la visita 2. La virulencia de los ácaros de pollo en el grupo testigo llegó a un grado 4 y dio lugar a la muerte de los polluelos, mientras que con la población de ácaros de la visita 2 los polluelos sobrevivieron.

#### Comportamiento social

Después del quinto día de tratamiento se observó que la migración de las colonias de ácaros fue constante. Estas observaciones fueron confirmadas en un laboratorio con los ácaros de pollo de la visita 1. No fue posible encontrar colonias estables en los experimentos en tubos de ensayo que se realizaron. Sólo se observó migración continua.

Los ácaros de pollo de la visita 2 se introdujeron en las colonias de ácaros testigo y se observó que había desorganización de las colonias que no pudieron alcanzar su reconstrucción.

#### Estudio de los perfiles cromatográficos de la cutícula de los ácaros de la visita 2

Los *Dermanyssus* de la visita 2 fueron muertos por inmersión en CO<sub>2</sub> a -78°C para provocar una muerte brutal sin drenar sus tubos digestivos. Los ácaros de pollo se colocaron entonces en diclorometano y el análisis del disolvente se realizó usando GC/MS. Los cromatogramas se ilustran en la figura 24 y muestran los dos picos característicos de DRA (a 13,23). La adsorción por la cutícula de los ácaros de las dos moléculas que son fuertemente hidrófobas no fue sorprendente ya que las cutículas de los ácaros tienen una estructura que tiene una alta afinidad por las composiciones hidrófobas.

**Parámetros médicos de la sangre de las gallinas**

El análisis de la sangre extraída de las gallinas en la visita 1 y 2 tuvo notables diferencias con respecto a los 35 días de tratamiento. La tabla 9 de más adelante ilustra los resultados de los ensayos de la sangre en la visita 1 y 2 y se calcularon la media y las variaciones ( $\sigma$ ).

5 Como puede verse en esta tabla, se observó un aumento significativo en el hematocrito para este valor fisiológico. El valor observado en la visita 1 fue extremadamente bajo y comprendía valores que variaban de 19,73% a 27,77%, valores los cuales son inferiores al valor fisiológico normal de 30%. El valor hematocrito refleja la pérdida de sangre que es importante y no compatible con la producción de huevos correctos. En contraste, el hematocrito de las  
10 gallinas tratadas desde la visita 2 tuvo valores entre 31,42% y 38,78%, los cuales son valores normales y, por tanto, reflejan que el tratamiento con DRA dio lugar a la inhibición de la alimentación de los *Dermanyssus* y, por tanto, la pérdida de sangre no se produce en las gallinas tratadas.

Los menores valores de los granulocitos de la sangre de las gallinas tratadas con DRA en la visita 2 en comparación con la visita 1 confirman la regresión de la infestación de ácaros del pollo. Una disminución drástica de granulocitos y eosinófilos es índice de la disminución de la perturbación de las gallinas inducida por las picaduras de los ácaros del pollo, las cuales dan lugar a una respuesta inflamatoria o a un estado de estrés inducido por irritación repetida.  
15

El resultado de los leucocitos/linfocitos se considera como un índice médico fiable de estrés y este valor fue significativamente menor en la sangre extraída de las gallinas en la visita 2 en comparación con la sangre extraída de las gallinas en la visita 1, las cuales no fueron tratadas con DRA.

**Tabla 9**

	Valores biológicos normales (%)	Valores en la visita 1 (%)	Valores en la visita 2 (%)
Granulocitos neutrófilos de núcleo no segmentado	0-6	5,53 ( $\sigma = 1,125$ )	1,2 ( $\sigma = 1,320$ )*
Granulocitos neutrófilos de núcleo segmentado	60-75	71,13 ( $\sigma = 18,71$ )	57,4 ( $\sigma = 15,76$ )*
Eosinófilos	0-4	1,20 ( $\sigma = 0,55$ )	0,32 ( $\sigma = 0,23$ )*
Basófilos	0-1	0,08 ( $\sigma = 0,12$ )	0,22 ( $\sigma = 0,12$ )
Macrófagos	0-5	1,69 ( $\sigma = 0,10$ )	2,11 ( $\sigma = 0,57$ )
Linfocitos	15-30	21,36 ( $\sigma = 1,91$ )	16,87 ( $\sigma = 1,65$ )
Relación leucocitos/linfocitos	< 0,55 ( $\pm 0,27$ )	0,32 ( $\sigma = 0,06$ )	0,10 ( $\sigma = 0,07$ )*
Hematocrito	30-40	22,8 ( $\sigma = 3,00$ )	35,2 ( $\sigma = 4,61$ )*

20 En la que \* significa que las diferencias entre las medias son estadísticamente significativas (ensayo t de Student (n = 28) ( $p < 0,01$ )).

**Electroforesis de las proteínas de la sangre de gallinas**

Se realizó una electroforesis de la sangre extraída de las gallinas en la visita 1 y en la visita 2 para determinar el contenido de proteínas en la sangre de las muestras.

25 La tabla 10 siguiente muestra la relación entre albúmina/globulinas (A/G) que evalúa la inflamación en los animales. Esta tabla refleja los valores obtenidos en la visita 1 (V1) y en la visita 2 (V2).

**Tabla 10**

Visita 1 (V1)	Visita 2 (V2)
0,15	0,00
0,53	0,98
0,34	0,76

0,53	0,78
0,41	1,05
0,58	0,97
0,39	1,02
0,73	0,93
0,28	1,05
0,66	0,93
0,50	0,90
0,46	0,79
0,38	0,80
0,61	

El valor medio de la relación A/G es 0,46 para V1 y 0,92 para V2. El valor normal que está publicado es 0,71 (Sturkie y Newman, 1951). Por tanto, estos resultados ilustran que hubo más inflamación en las gallinas que no fueron tratadas con DRA que en las gallinas que fueron tratadas con DRA.

#### Resultados de las autopsias

5 Las gallinas de la visita 1 que fueron sacrificadas y sometidas a una autopsia revelaron que no hubo ninguna anomalía en las 14 autopsias realizadas fuera de las lesiones por arañazos presentadas en la región axilar y que aparecieron en el anca de muchas gallinas. Los exámenes histopáticos del intestino ciego fueron normales. Se examinaron las glándulas uropigiales de las aves y fueron de tamaño normal y su contenido estaba conforme con el que habitualmente se observa en esta especie; es decir, contenían un aceite amarillo y tenían pequeños glóbulos translúcidos de cera.

10 Las gallinas de la visita 2 que fueron sometidas a autopsia no tuvieron ninguna anomalía macroscópica. Las glándulas uropigiales fueron muy voluminosas. Su contenido fue muy diferente del descrito anteriormente para las gallinas de la visita 1; era muy oleaginoso y tenía un color opaco ámbar a naranja. El aspecto de la glándula uropigial de las gallinas de la visita 2 es el mismo que el que se observó en el pato. Se extrajeron las secreciones y se usaron en los ensayos de alimentación *in vitro* anteriormente descritos.

15 Durante la prueba, los investigadores advirtieron una alta tasa de mortalidad en las gallinas de la fila 4. Las gallinas de la fila 4 tuvieron una fase de anorexia acompañada por insomnio antes de morir. Se realizaron tres autopsias adicionales a las gallinas muertas de la fila 4. Estas gallinas eran caquéticas y tuvieron una atrofia muscular particularmente notable es sus músculos del esternón. También se notó una regresión uterina y los folículos maduros estaban bloqueados.

20 Se examinó la molleja de las gallinas sacrificadas de la fila 4. La cavidad de las mollejas contenía el exterior del cereal y varios fragmentos de comida que eran difíciles de identificar. El contenido de las mollejas estaba saturado con bilis y contenía una materia verde, la cual era la misma para la membrana de la mucosa. Esto indicó que las gallinas ayunaron. El área parenquimal hepática de dos de las gallinas tenía un aspecto bronceado el cual no es, sin embargo, el aspecto bronceado que es típico de las gallinas infectadas por Salmonella.

#### Parámetros zootécnicos

##### La producción de huevos

También se analizó la producción de huevos y los resultados se presentan en la figura 25.

30 Como puede deducirse a partir de esta figura, la curva de producción de huevos de las gallinas en esta prueba tuvo tendencia a seguir la curva teórica mostrada en la figura 24. Como puede verse en esta figura, después de un fuerte comienzo y un pico inicial de producción de huevos, la producción de huevos disminuyó rápidamente y permaneció constante por debajo de la curva teórica con una importante caída alrededor de las 55 semanas respecto al peso teórico. Esta curva sobrepasa a la primera curva. En efecto, el peso de los huevos está debajo del teórico normal, pero el peso de los huevos para cada gallina es normal.

35 La tasa de huevos de baja calidad recogidos es una variable que es interesante observar porque es un componente principal de la rentabilidad del grupo de gallinas. Los resultados medios antes y después del tratamiento permiten observar un aumento de la relación de huevos que fueron de calidad inferior.

Las cinco últimas semanas durante la duración del tratamiento se observa un aumento de la producción de huevos en comparación con la producción normal de huevos. La relación de los huevos que fueron de calidad inferior aumenta ligeramente en las dos primeras semanas del tratamiento con DRA, alcanza luego una meseta y el tamaño aumenta luego al final para, en general, pasar el 15%.

- 5 El peso medio de los huevos disminuye después de 4 semanas con el inicio del tratamiento de DRA. Este margen no es significativo, pero es interesante ya que la figura 25 permite una comparación del peso de los huevos producidos antes y después del tratamiento, la cual muestra el aumento del peso medio de los huevos.

La cantidad de pienso comido por las gallinas por día también disminuye algo para las gallinas en el curso del tratamiento con DRA. Pueden realizarse las siguientes dos hipótesis en relación con esta situación:

- 10 La DRA en el agua de las gallinas perturba a las gallinas debido al sabor diferente del agua o a problemas digestivos asociados con el tratamiento. Sin embargo, la cantidad de agua que fue consumida por día fue constante. Podría pensarse que DRA tiene una influencia vehemente sobre las gallinas, lo cual no es el caso. La producción de huevos (peso/clase inferior/tamaño del huevo) fue muy favorable usando el tratamiento con DRA.

- 15 La DRA permite la disminución del consumo de comida de las gallinas y mantiene la producción clásica en la que la disminución del índice de consumo de comida aumenta el margen bruto del criador de gallinas.

La tasa de mortalidad de las gallinas es conforme con el intervalo normal de una granja de gallinas ponedoras.

### Discusión de resultados

#### Resultados parasitológicos

- 20 Los resultados parasitológicos completos muestran una importante regresión de la población de *Dermanyssus* en el curso del ensayo con DRA. Esta regresión, que sigue la cinética que se observó durante los ensayos *in vitro*, comenzó el quinto día del tratamiento. La invasión de la población parásita comienza por los estadios vulnerables que son el estadio de ninfas N2, luego las hembras de tipo 1 y después los machos. Las formas de resistencia de las ninfas tipo N1 y de las hembras de tipo 2 muestran una supervivencia significativa que disminuyó y se asoció con modificaciones mayores en el comportamiento social. La incapacidad aparente de estos ácaros de pollo para reagruparse en colonias estructurales alrededor de las hembras de tipo 2, que se observa habitualmente, se asemeja a una disminución de su esperanza de vida.

Los ensayos relacionados con la alimentación de los ácaros *in vitro* con las secreciones uropigiales tomadas en la visita 2 (V2) confirman la presencia de DRA en las secreciones y confirman la elección de administración. Los componentes de DRA después de la reabsorción por el tracto digestivo son secretados por la glándula uropigial.

- 30 Los resultados obtenidos para la fila 4 no se correlacionaron con los resultados obtenidos para las otras filas. Parece que el tratamiento en la fila 4 comenzó aproximadamente 2 semanas después de las otras filas, ya que, de hecho, se observó la presencia de dos fases líquidas en el recipiente de agua. El sobrenadante observado en los reservorios de agua fue del color del arco iris, cubrió la superficie total y se adhirió con fuerza a la pared interna del reservorio de agua. Un análisis por cromatografía de una muestra extraída del reservorio en la fila 4 confirmó que era DRA.

- 35 Además, el reservorio de agua de la fila 4 tuvo más depósitos de calcio que los otros 6 reservorios. Asimismo, algas verdes estaban colonizando en este reservorio en ciertos depósitos de calcio. Este reservorio de agua también fue colocado justo próximo al sistema de ventilación del aire acondicionado y la temperatura del agua se elevó. Por tanto, la diferencia en el reservorio de agua de la fila 4 explica las diferencias obtenidas en los resultados comparados con las otras filas tratadas con DRA.

#### Parámetros médicos

- 45 Estos resultados fueron consistentes con los resultados parasitológicos. La inhibición del comportamiento de alimentación de los ácaros de pollo mostró un término de carencia de sangre y el proceso inmune fue provocado por las picaduras repetidas las cuales disminuyeron con el tratamiento con DRA. El estudio de estos parámetros también permite subrayar la mejora del bienestar de las gallinas como indicaron los resultados de los valores de leucocitos/linfocitos y hematocrito. Esta mejora de los parámetros fisiológicos favoreció mejor la producción de huevos y dio lugar a menos morbilidad.

#### Parámetros zootécnicos

- 50 La edad de las gallinas tratadas y también la duración del ensayo (limitado por el sacrificio del total de los animales participantes) no permitieron ningún análisis estadísticamente significativo de los resultados. Sin embargo, la tendencia que se observó en aquellos parámetros que se midieron en los animales participantes muy parasitados por *Dermanyssus* fue alentadora.

Las implicaciones terapéuticas de DRA están limitadas al dominio parasitológico. Los resultados zootécnicos son de

hecho indicativos de la supresión de los ácaros de pollo cuando se administra DRA.

En EE.UU., los medios de producción se calculan sobre la base de la cantidad de producción por año recientemente suministrada en los "Grand Consortiums of the Laying Hen". Así, en 1987, ya un 92% de las granjas americanas pudieron ser consideradas infestadas por *Ornithonyssus sylviarum*. Hinkle había deducido que 92% de la producción que fue suministrada es la cantidad correspondiente a los animales que estaban parasitados. Para este autor no es una situación normal.

### Ejemplo 18

El objetivo de este ejemplo fue ensayar la eficacia de DRA en gallineros con gallinas ponedoras de huevos. Esta prueba duró 4 semanas. En este ejemplo, se usaron 6 edificios, B1 a B6, que albergaban 31.000 gallinas por edificio. Las gallinas utilizadas en este ejemplo fueron gallinas Isabrown (ponedora de huevos marrones). La edad de las gallinas difería en los edificios. En los edificios 1, 2 y 3 (denominados de aquí en adelante como B1, B2 y B3) las gallinas tenían una edad ed 29 semanas, mientras que en los edificios 4, 5 y 6 (denominados de aquí en adelante como B4, B5 y B6) las gallinas tenían una edad ed 57 semanas.

### Tratamiento

Cada edificio fue tratado independientemente de los otros 5 edificios. Para el edificio B1 se efectuó un ensayo con una pulverización de la DRA usando un termonebulizador de 12 mL de DRA (50% (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y 50% (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol) en una concentración de 4% (% en peso/% en peso), diluidos en 12 litros de producto en el termonebulizador y se mantuvieron 3 reservorios en este edificio. Para los edificios 2 a 6 se administró DRA (50% (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y 50% (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol) en el agua potable. Esto proporciona un tratamiento ininterrumpido a las gallinas y la duración del tratamiento varió como se indica en la tabla 11 siguiente. Para los edificios B2 y B6, se emprendió un segundo tratamiento después de una visita de control el día 15 (15 días después del inicio del tratamiento). Las cantidades que se distribuyeron para los edificios B2 a B6 fueron 50 mL de la DRA en un reservorio de 500 litros. En este ejemplo no se realizó ningún control.

Tabla 11

Edificio	Tratamiento	Duración	Cantidad
B1	Pulverización		3 Reservorios
B2	Agua potable	5 días (+ 5 días después del día 15)	Voluntaria
B3	Agua potable	10 días	Voluntaria
B4	Agua potable	3 días	Voluntaria
B5	Agua potable	5 días	Voluntaria
B6	Agua potable	3 días (+ 3 días después del día 15)	Voluntaria

Se administraron comida y agua a las gallinas como se conoce en el negocio. Se realizó una visita control en día 2 y el día 15.

El estado de infestación de los ácaros rojos del pollo se determinó según el método de Bruneau et al., *Parasitology*, **123**, 583-589 (Dec. 200). La medida del estado de infestación se proporcionó en escala log. La nueva infestación de 6/8 no puede medirse excepto en un laboratorio. La escala consideró que una nueva infestación de 4/8 es un estadio crítico para tratar los edificios o gallineros.

Se extrajo sangre de las gallinas y se realizó una electroforesis de proteínas. También se evaluó el estado de las gallinas.

### Características de los edificios gallineros

Los edificios gallineros estaban infectados por ácaros rojos del pollo durante 7 años antes de esta prueba. Las diferentes soluciones para minimizar a los ácaros rojos del pollo que se utilizaron previamente fueron diferentes ciclos ligeros de 4 horas con 2 horas de descanso día y noche, tratamientos (justo para 5 bandadas) con Sevin, Cepoux y Actograde, que son productos comercialmente disponibles usados para tratar ácaros rojos del pollo. Los tratamientos no tuvieron éxito, lo cual no tiene ninguna influencia sobre las gallinas en esta prueba.

Los edificios estaban situados como sigue:



Corredor						
Lugar para juntar los huevos 1		2	3	4	5	6

La evaluación del grado de infestación de ácaros rojos del pollo fue según el método de Bruneau, *supra*. Se efectuó una primera evaluación de los edificios para verificar el estado de infestación de los edificios y los diferentes ácaros rojos del pollo que estaban presentes. Después, el día 1 se efectuó en un laboratorio un estudio de diagnóstico del estado de la población de los ácaros rojos del pollo después de su eliminación de los edificios. En los edificios gallineros estaban presentes dos especies de ácaros del pollo, *Dermanyssus gallinae* (DG) y *Dermanyssus hirundinis* (DH).

Los resultados de la evaluación se muestran en la siguiente tabla 12:

**Tabla 12**

Edificio	<i>Dermanyssus gallinae</i> (%)	Escala de infestación (nº/8)
B1	86	3,9
B2	97	3,4
B3	93	3,7
B4	84	5,4
B5	89	4,2
B6	87	4,6

Después de aproximadamente 9 semanas se hicieron las siguientes observaciones.

**10 Observaciones y resultados**

La población la infestación de los ácaros del pollo no cambió durante esta prueba. El 85% de los ácaros del pollo presentes fueron *Dermanyssus gallinae* y el resto fueron *Dermanyssus hirundinis*.

Se evaluó cada uno de los edificios y se obtuvieron los siguientes resultados:

15 Edificio 1 - Las colonias de ácaros aún estaban allí. En este edificio se advirtió la mejora de la situación de los parásitos. No había ácaros en los huevos recogidos. Menos que 1% de los huevos tenían manchas y fueron arruinados por los ácaros que se alimentaban sobre las mismas. En el laboratorio, los ácaros parecieron perfectamente funcionales; es decir, huían de la luz, volvían a formar sus colonias incluso aunque se dispersaran y comían normalmente. El tratamiento está siendo comprobado adicionalmente en este edificio.

20 Edificio 2 - Se encontró pilas de los ácaros rojos del pollo, pero no colonias. Su presencia en zonas marcadas en la primera visita de colonias desapareció después del tratamiento con DRA. No hubo ninguna observación de huevos con manchas por ácaros que se alimentaban sobre las mismas. Los ácaros no huían de la luz o por estimulación mecánica. Los ácaros tampoco eran capaces de alimentarse.

Edificio 3 - Se advirtieron las mismas observaciones que en el edificio 2.

25 Edificio 4 – Se advirtió la presencia de varios ácaros rojos del pollo en movimiento sobre todas las estructuras de este edificio. Las colonias estaban desorganizadas y molestas. Se observó una caída en el número de ácaros del pollo en el edificio de recogida de huevos. Muchos de los huevos fueron de baja calidad, en promedio 35%. Los ácaros del pollo tenían tendencia a ocultarse en el suelo, lo cual causaba múltiples riesgos porque eran aplastados en el edificio de recogida de huevos.

30 Edificio 5 - Mismas observaciones que en el edificio 4.

Edificio 6 - Mismas observaciones que en el edificio 4.

La siguiente tabla 13 muestra los resultados de la infestación el día 15:

**Tabla 13**

Edificio	Día 0 (nº/8)	Día 15 (nº/8)
B1	3,9	4,1
B2	3,4	2,2
B3	3,7	1,6
B4	5,4	4,8
B5	4,2	3,7
B6	4,6	3,1

Sólo el edificio 1 tuvo un grado de infestación de ácaros del pollo que aumentó. Todos los otros edificios tratados con la DRA en agua reaccionaron de una manera positiva al tratamiento; es decir, la infestación de los ácaros del pollo disminuyó.

**5 Evaluación el día 35**

Los edificios también fueron evaluados el día 35, de una manera similar a la que se describió anteriormente el día 15. Se advirtieron las siguientes observaciones:

10 Edificios B1, B2 y B3: los ácaros no reaccionaron a la luz o a otra estimulación mecánica. Los ácaros fueron incapaces de alimentarse. En el edificio 1 más que 60% de las colonias se volvieron a formar después de su desagregación. La reformación de las colonias en el edificio 2 y en el edificio 3 no superó el 60%.

Edificios B4, B5 y B6: los ácaros no reaccionaron a la luz. La reacción al estímulo mecánico fue muy poca. El umbral de 60% de las colonias vueltas a formar se superó en el edificio 4 y en el edificio 6. Las infestaciones fueron prácticamente idénticas en B4 y B6 que en el edificio B1.

15 La siguiente tabla 14 muestra los resultados obtenidos relativos a la infestación comparando el día 0, el día 15 y el día 35:

**Tabla 14**

Edificio	Día 0 (nº/8)	Día 15 (nº/8)	Día 35 (nº/8)
B1	3,9	4,1	2,4
B2	3,4	2,2	2,3
B3	3,7	1,6	1,9
B4	5,4	4,8	4,5
B5	4,2	3,7	4,1
B6	4,6	3,1	4,1

Estos resultados indican que hay una disminución de la cantidad de ácaros rojos del pollo con el tratamiento con DRA.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición que comprende una de alomona repelente de pato derivada de secreciones de una glándula uropigial de un pato, que comprende adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol y/o sus derivados y/o mezclas de adipato de bis(2-etilhexilo) o diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol con uno o más derivados de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol, en la que dichos derivados se seleccionan de ésteres, sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol.
- 10 2. La composición según la reivindicación 1, en la que dicha alomona repelente de pato comprende entre 45,0 y 55,0 (% en peso/% en peso) de adipato de bis(2-etilhexilo) y entre 45,0 y 55,0 (% en peso/% en peso) de diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol y/o sus derivados y/o mezclas de adipato de bis(2-etilhexilo) o diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol con uno o más derivados de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol, en la que dichos derivados se seleccionan de ésteres, sales, alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos, esteroides y amidas de adipato de bis(2-etilhexilo) y diisobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol.
- 15 3. La composición de alomona repelente de pato según la reivindicación 1 ó 2, para usar para repeler arácnidos.
4. La composición de alomona repelente de pato según la reivindicación 1 ó 2, para usar para tratar o prevenir ácaros de pollo o ácaros del norte de aves de corral en gallinas, pollos y polluelos.
5. La composición de alomona repelente de pato según la reivindicación 3 ó 4, en la que dicha alomona repelente de pato se administra oralmente.
- 20 6. La composición de alomona repelente de pato según la reivindicación 3 ó 4, en la que dicha alomona repelente de pato se administra tópicamente.
7. Disolución, que comprende una alomona repelente de pato según la reivindicación 1 ó 2.

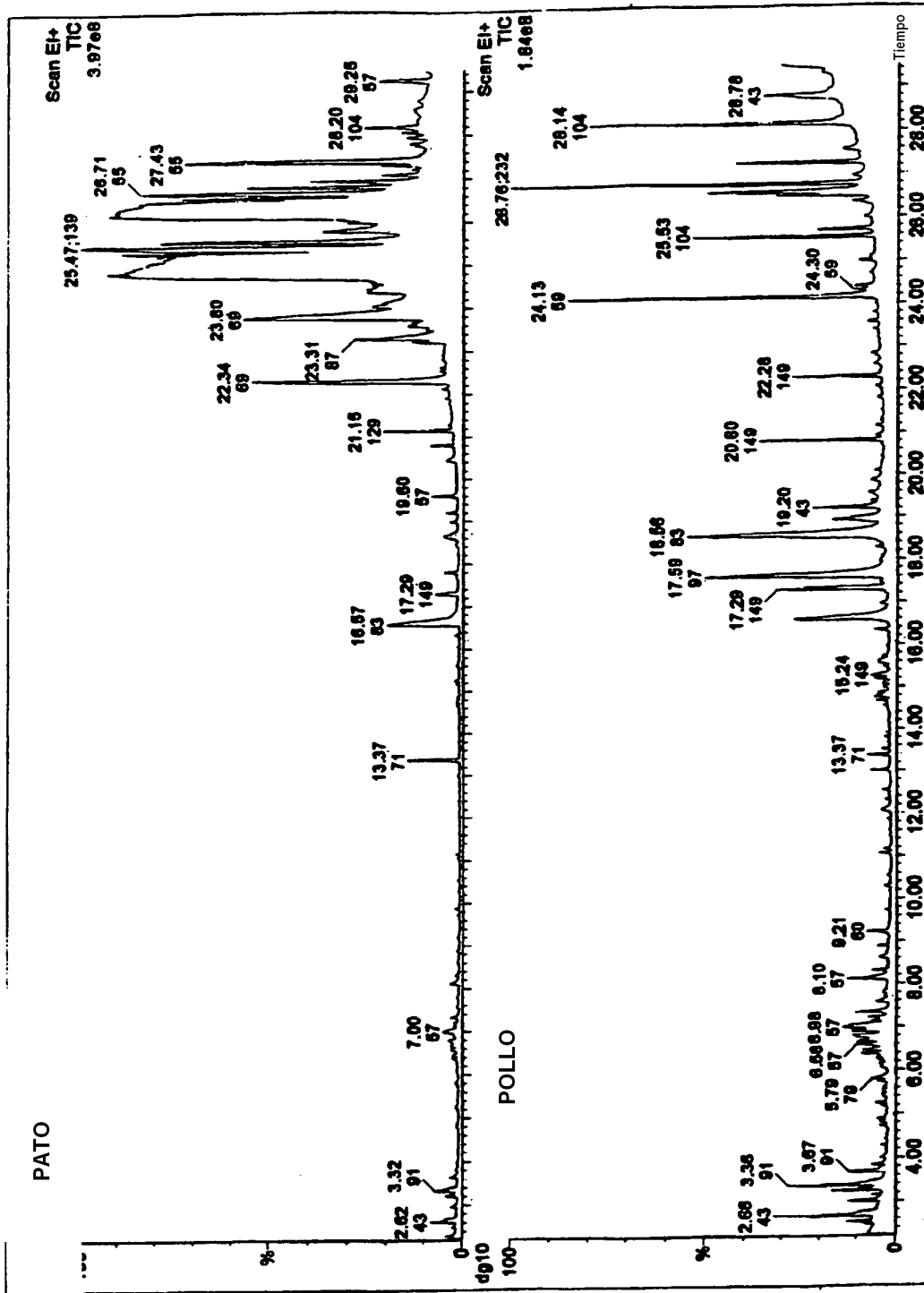


Figura 1

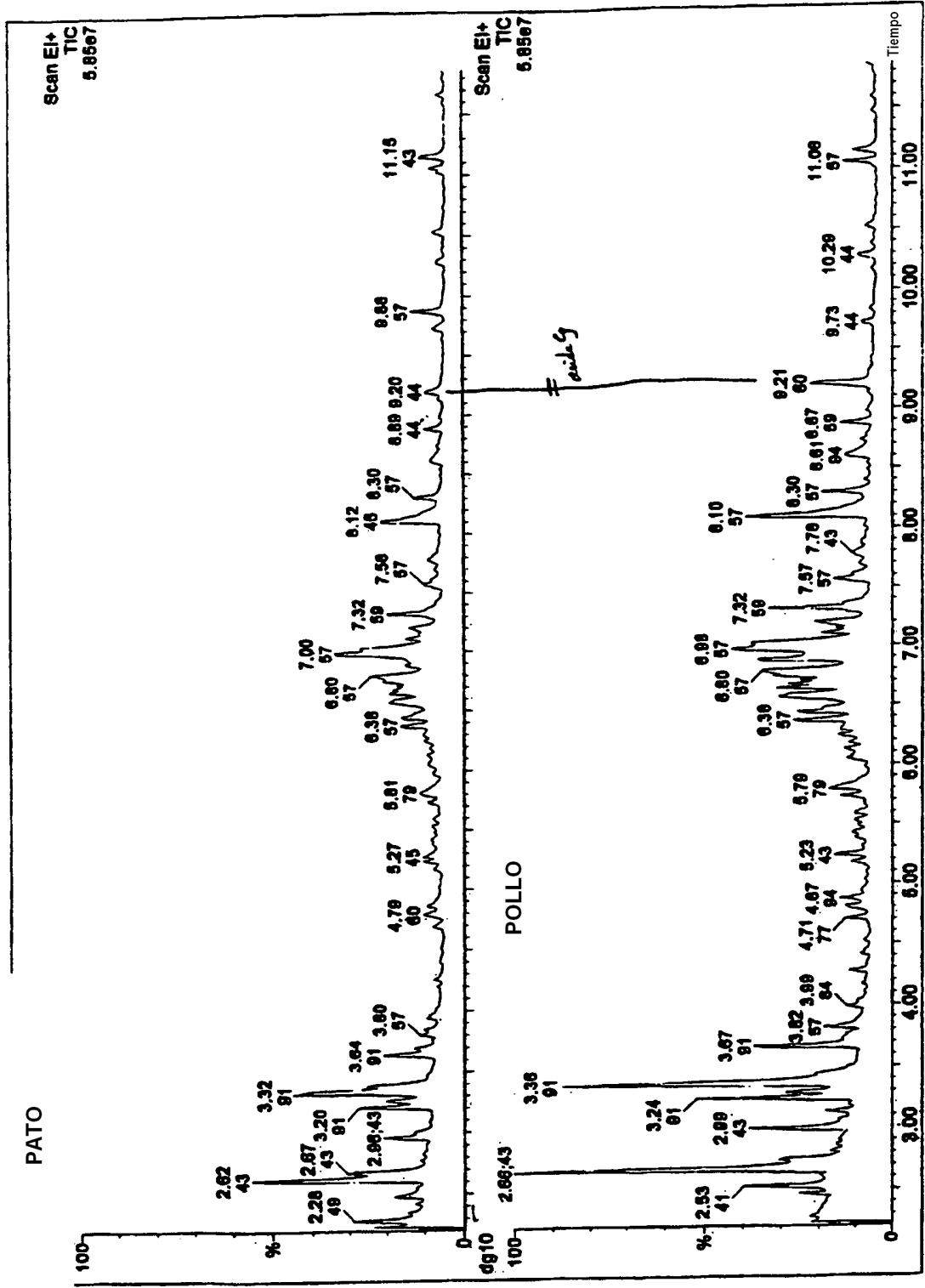


FIGURA 2

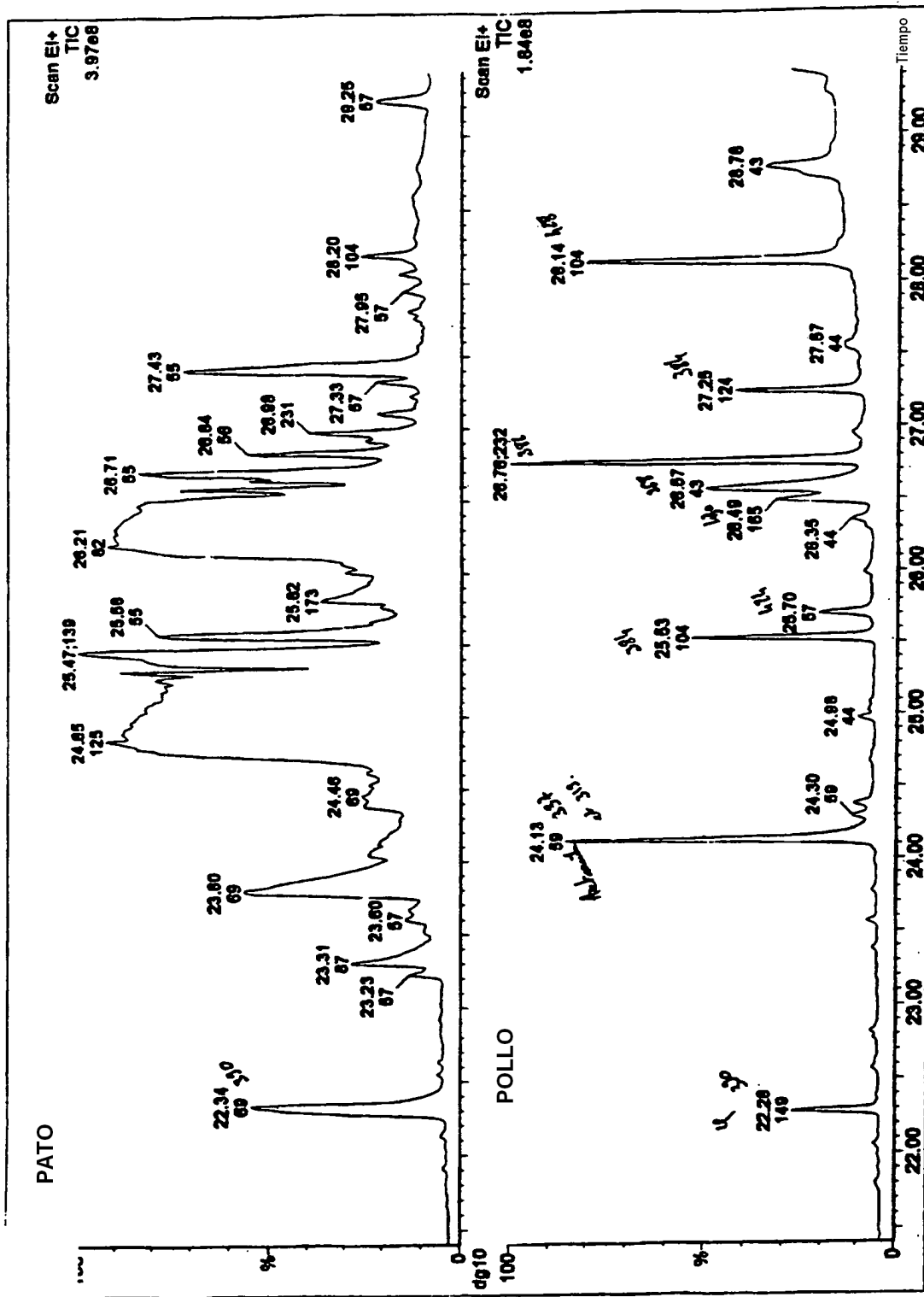


FIGURA 3



FIGURA 4

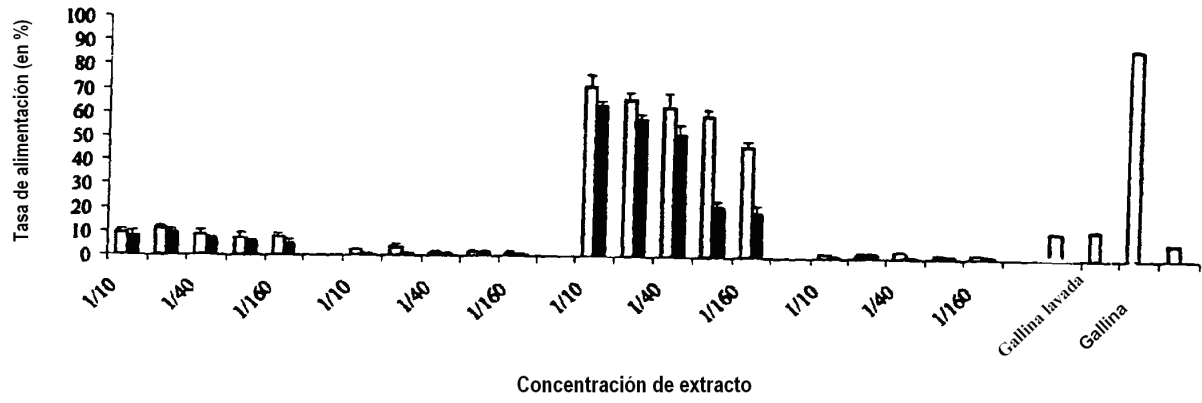


FIGURA 5



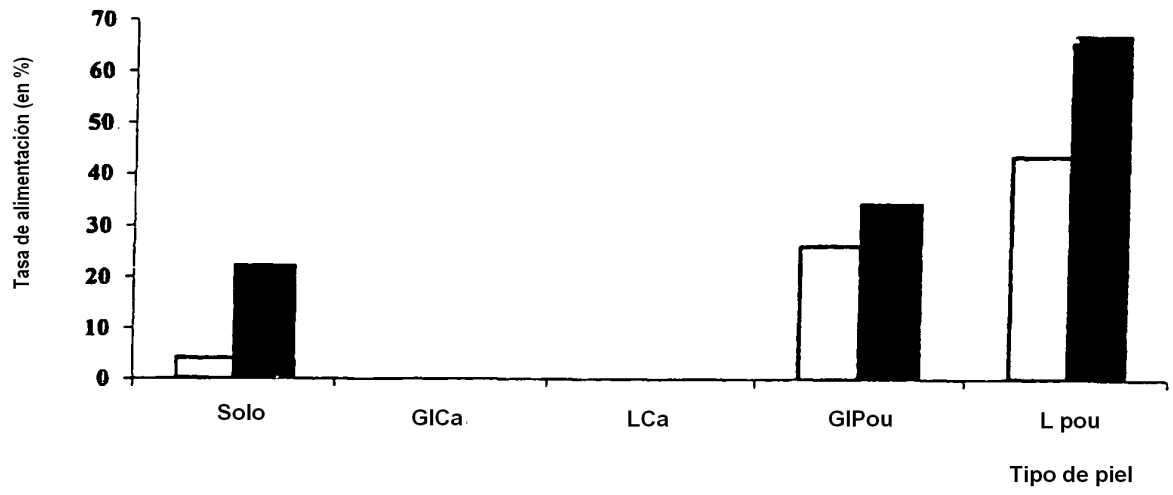


FIGURA 6

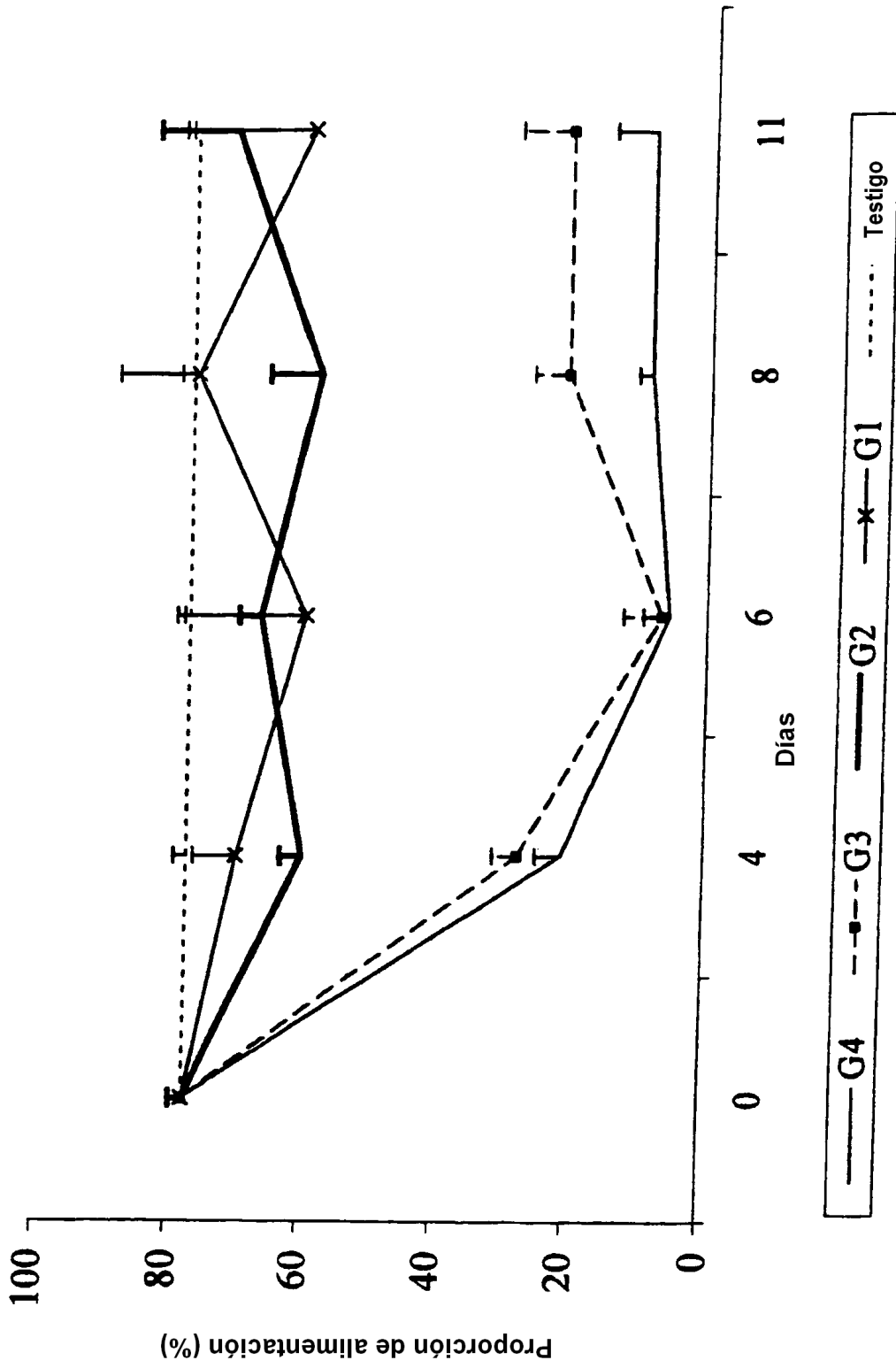


FIGURA 7

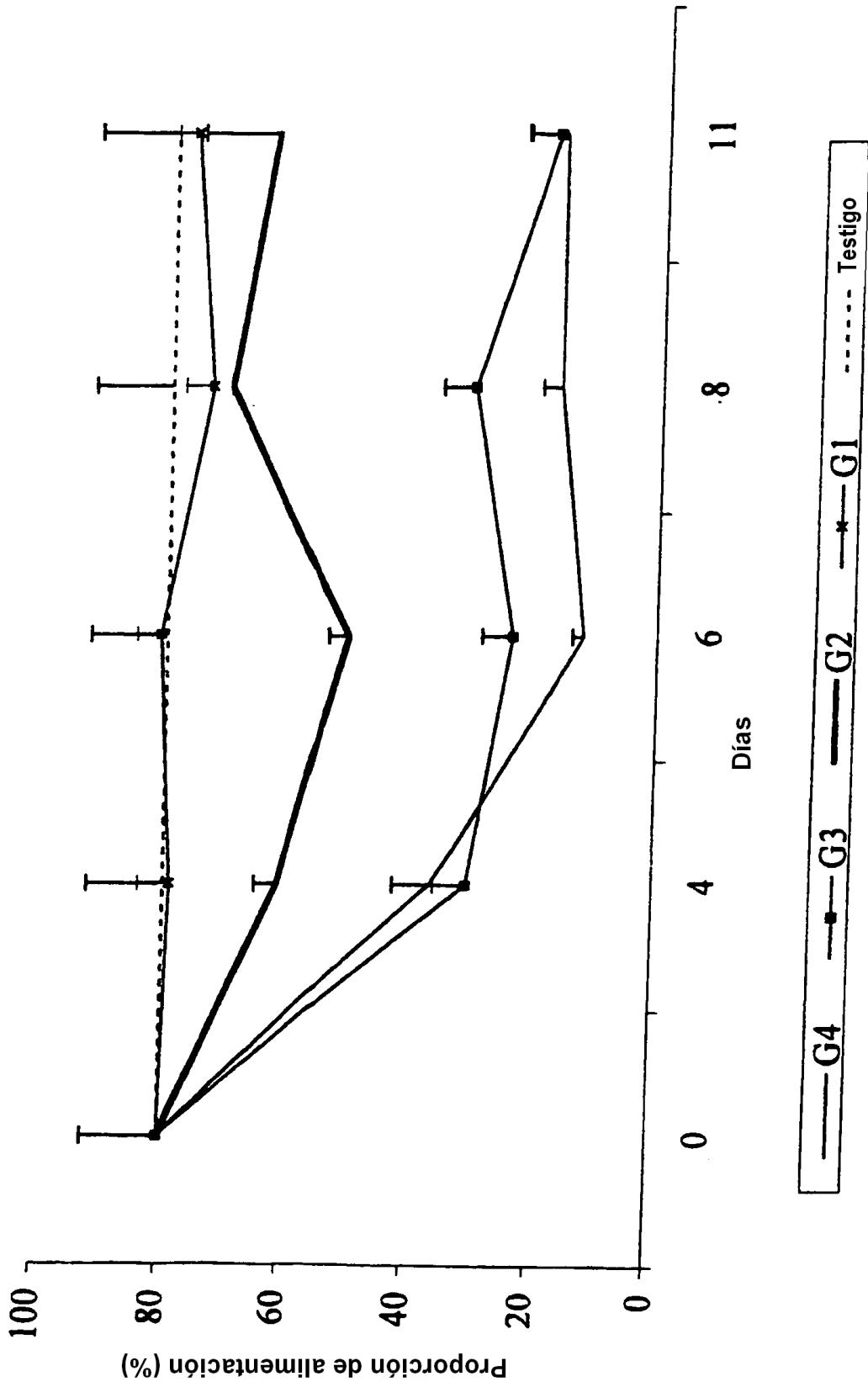


FIGURA 8

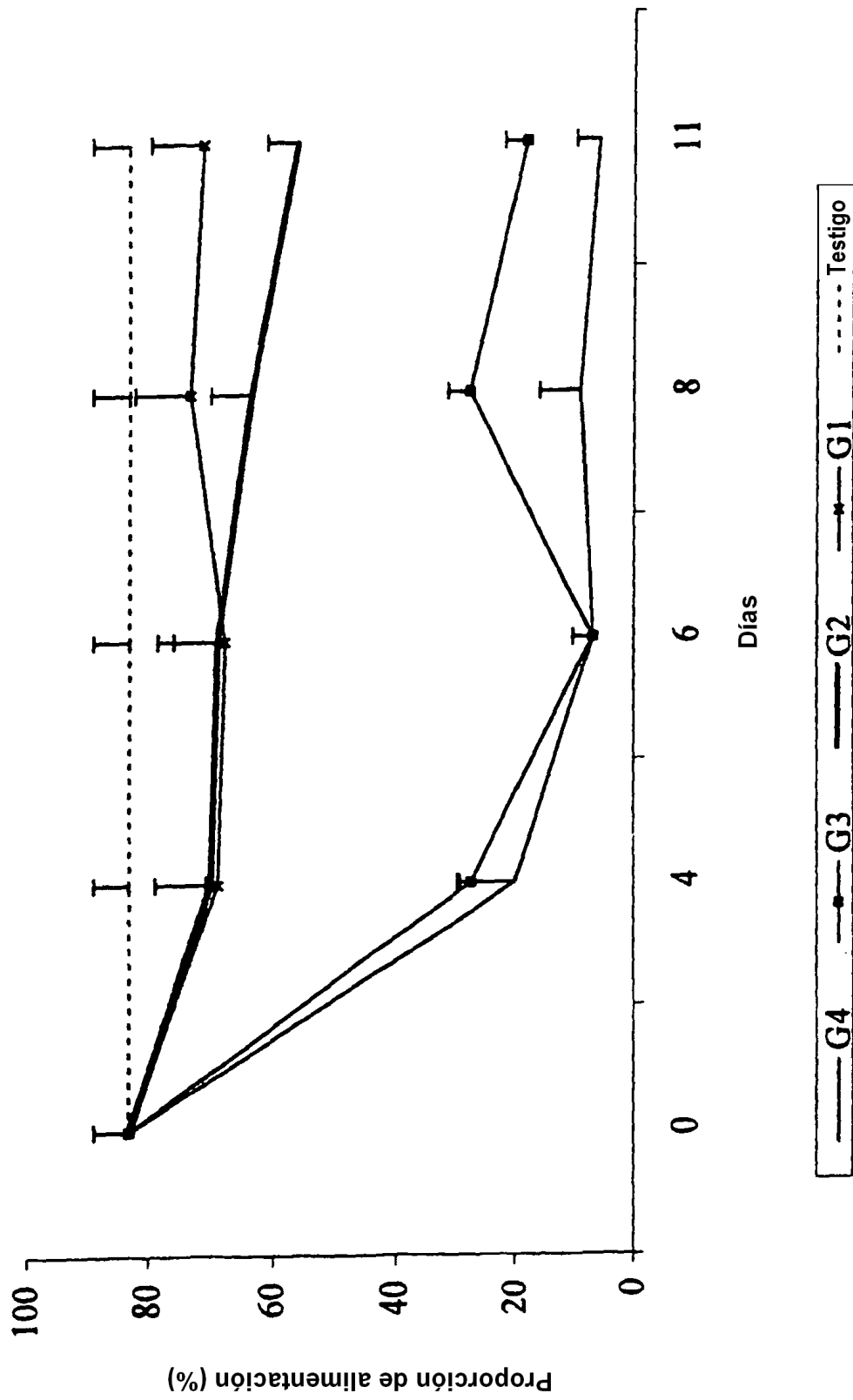


FIGURA 9

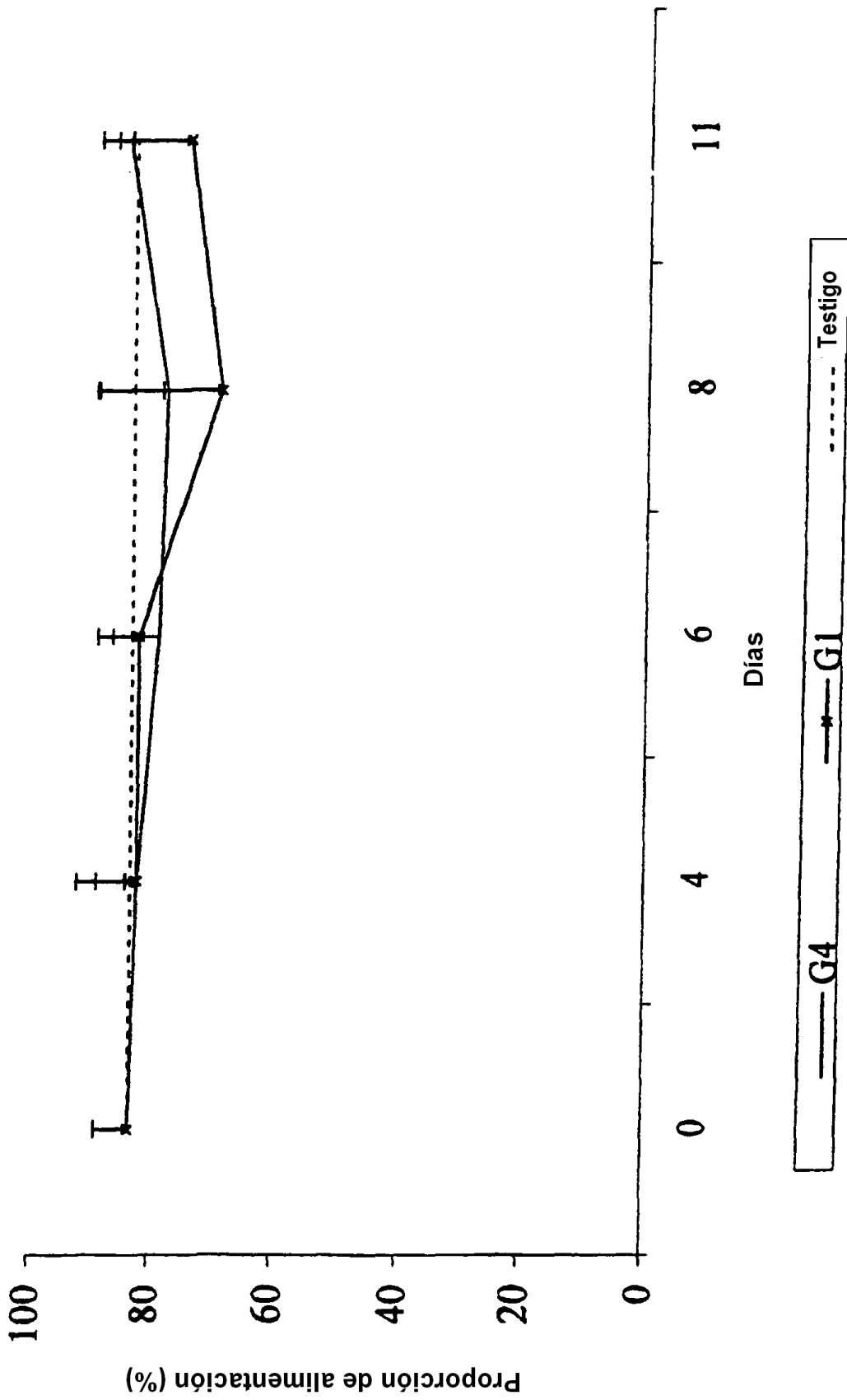


FIGURA 10

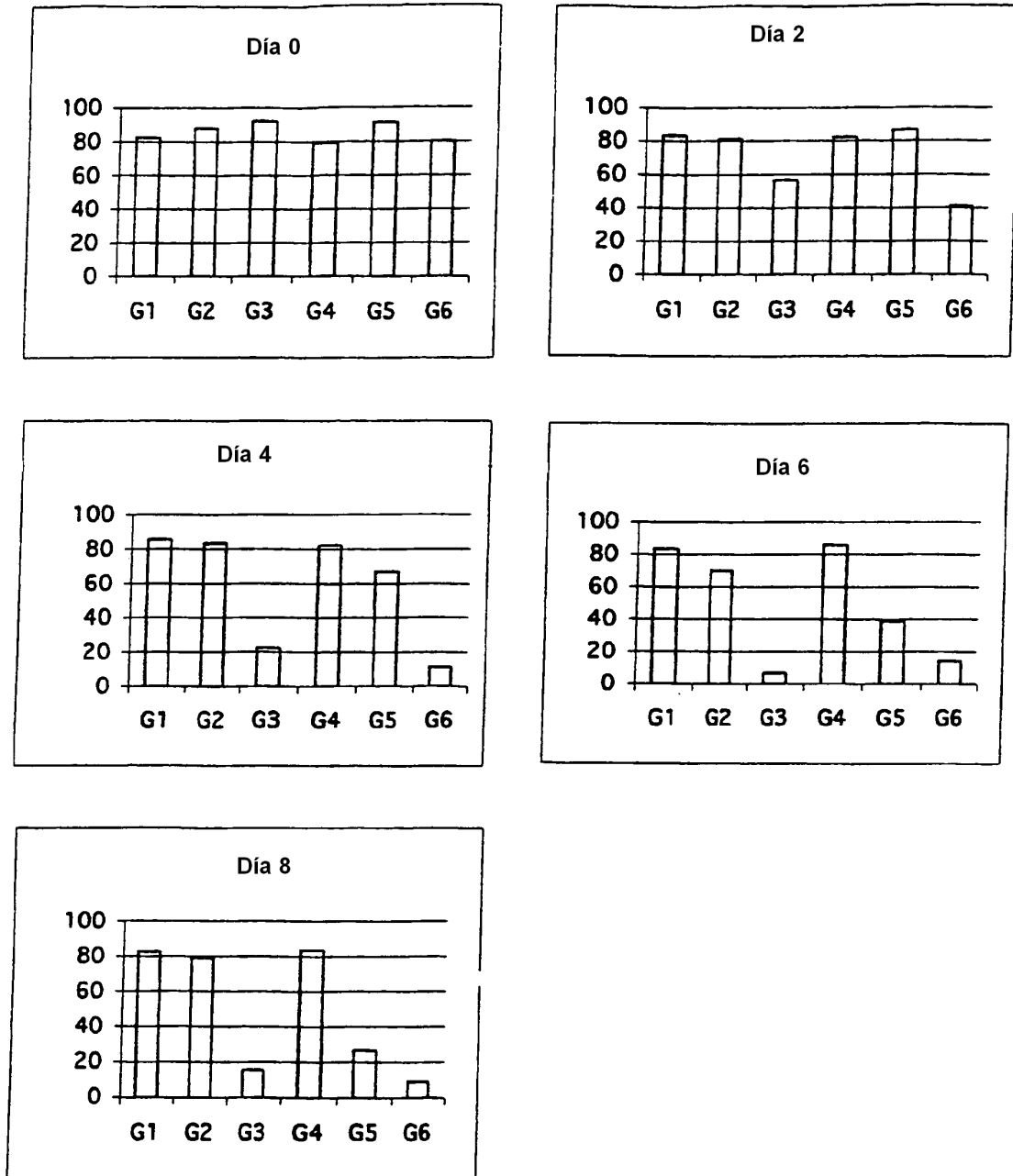


FIGURA 11

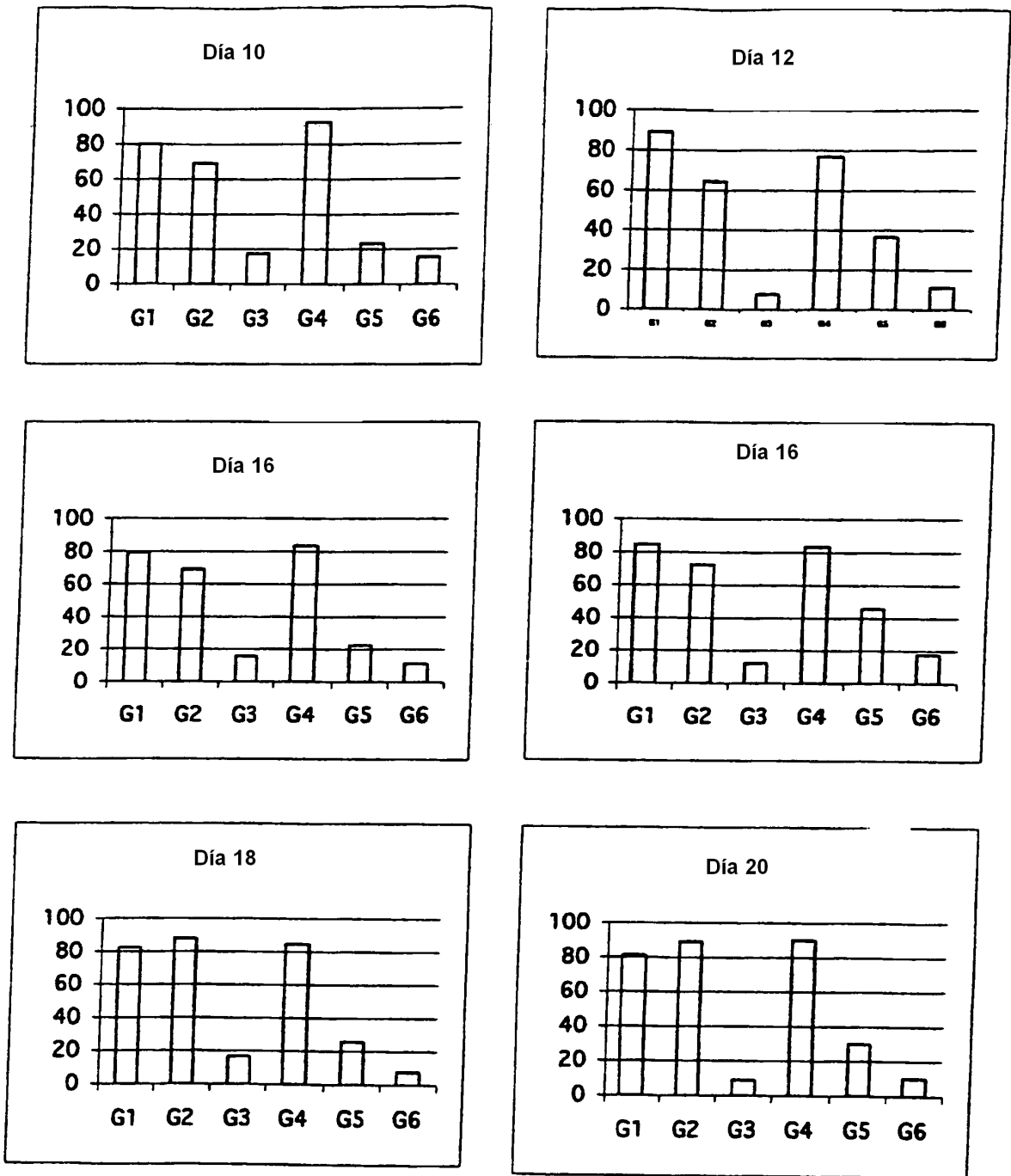


FIGURA 12

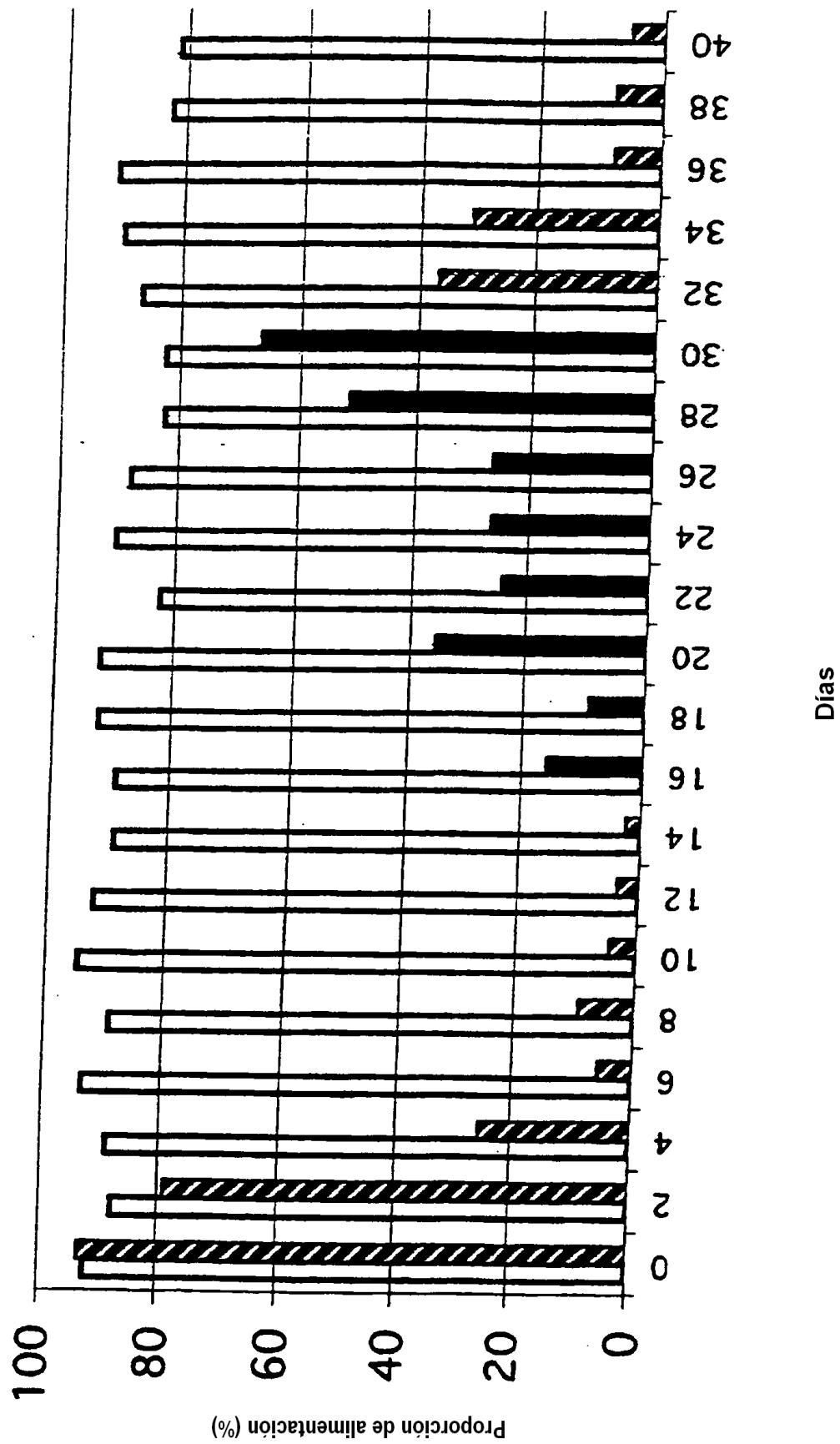


FIGURA 13



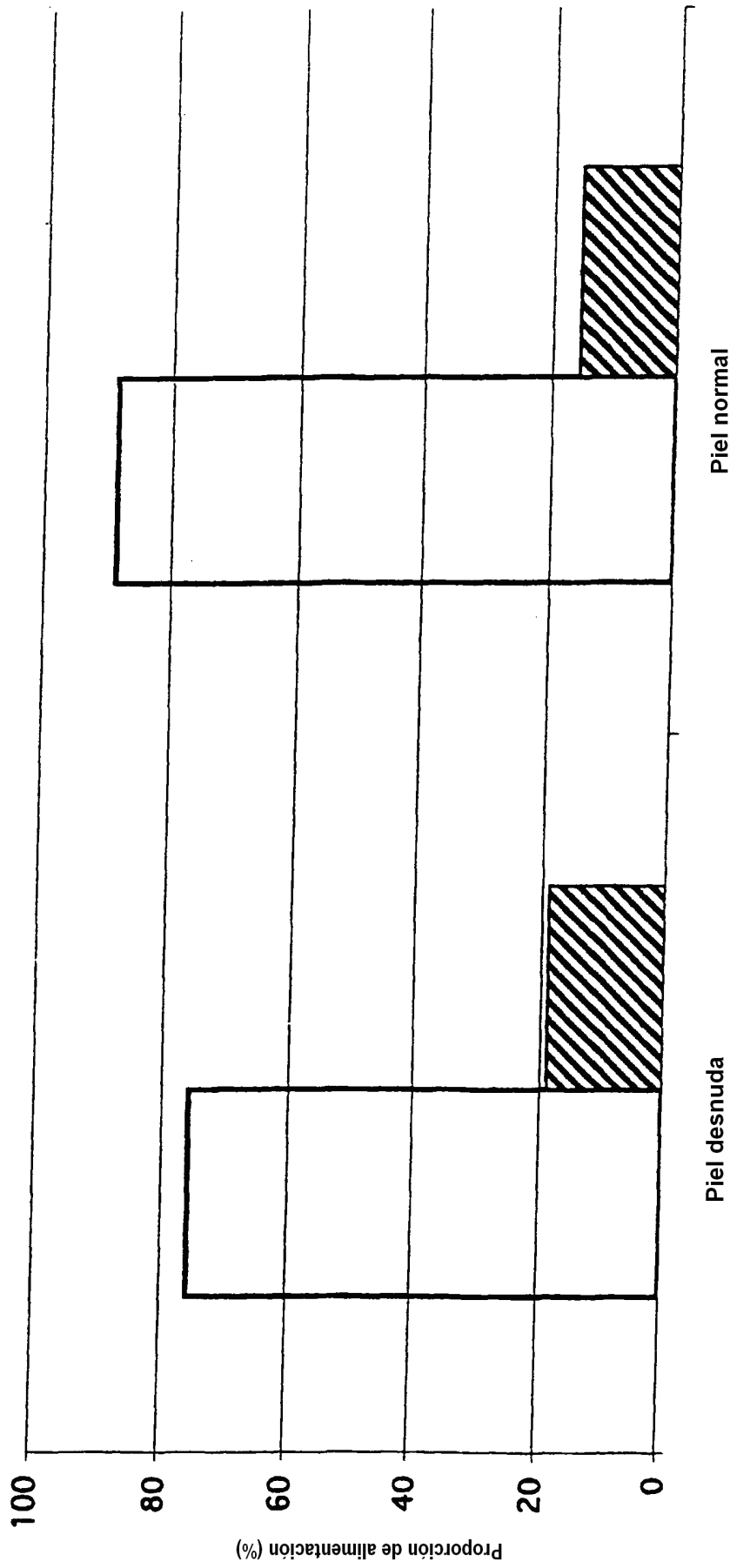


FIGURA 14

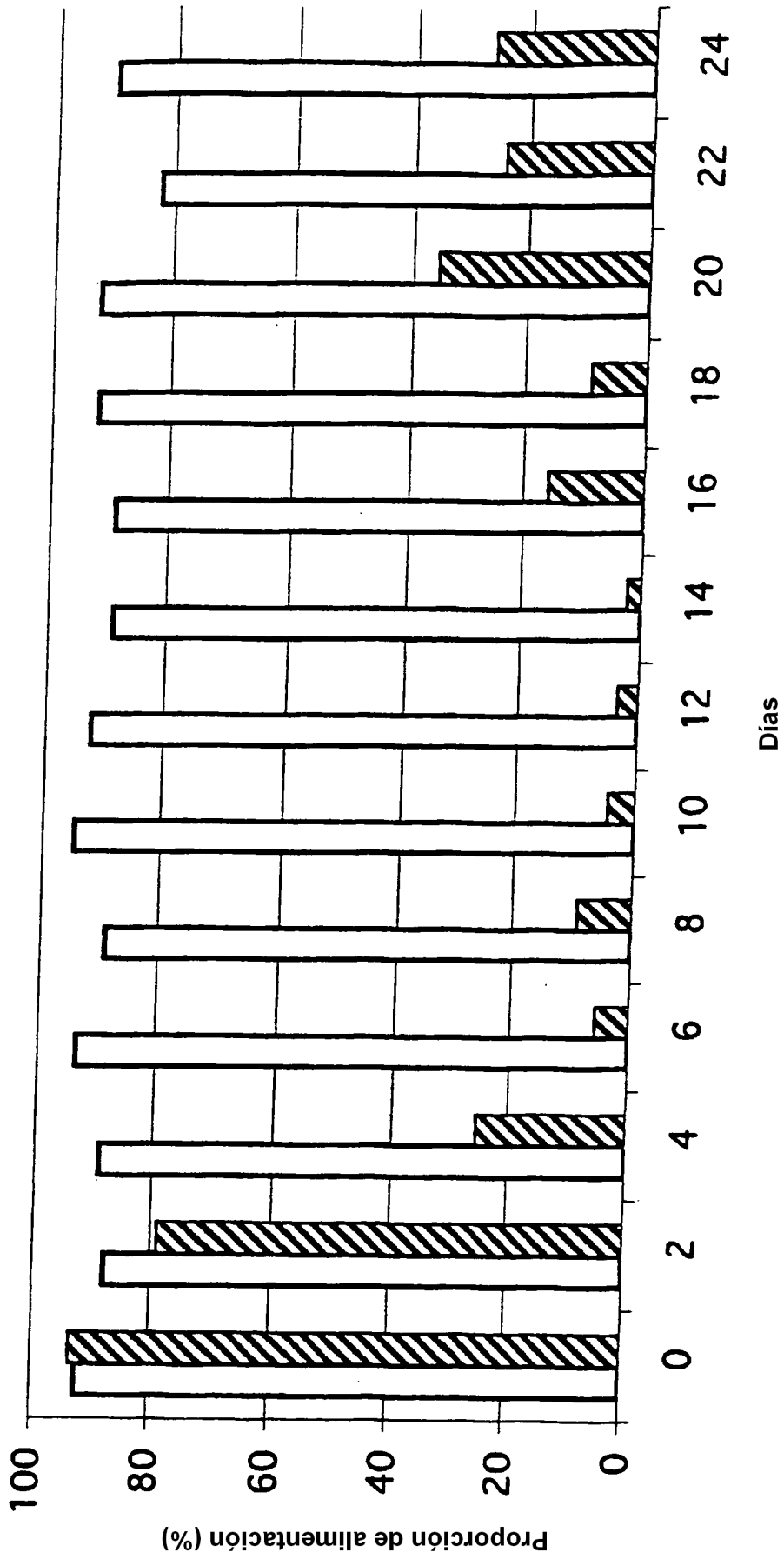


FIGURA 15

# GRADO DE INFESTACIÓN

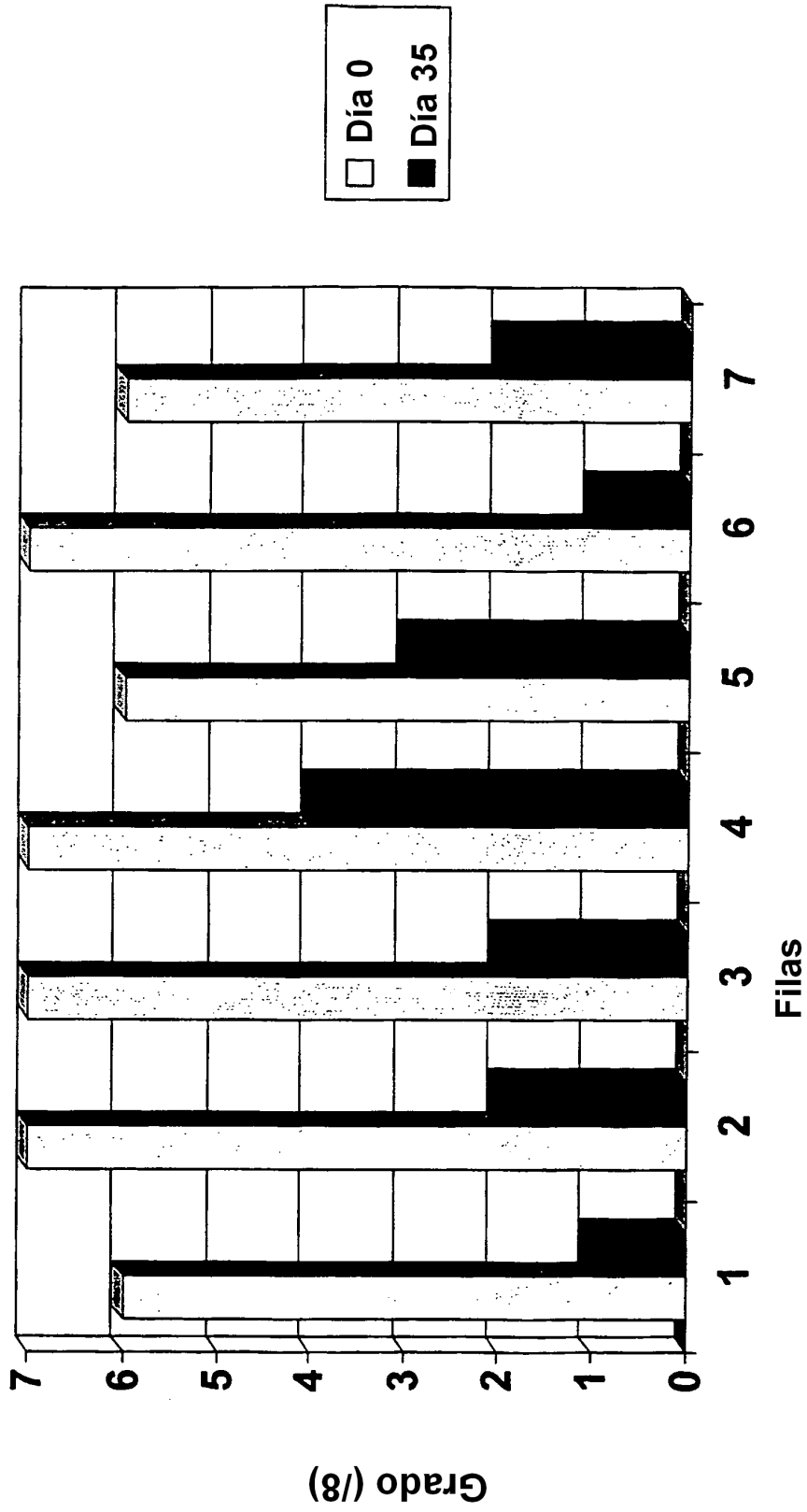


FIGURA 16

# Coops infestados

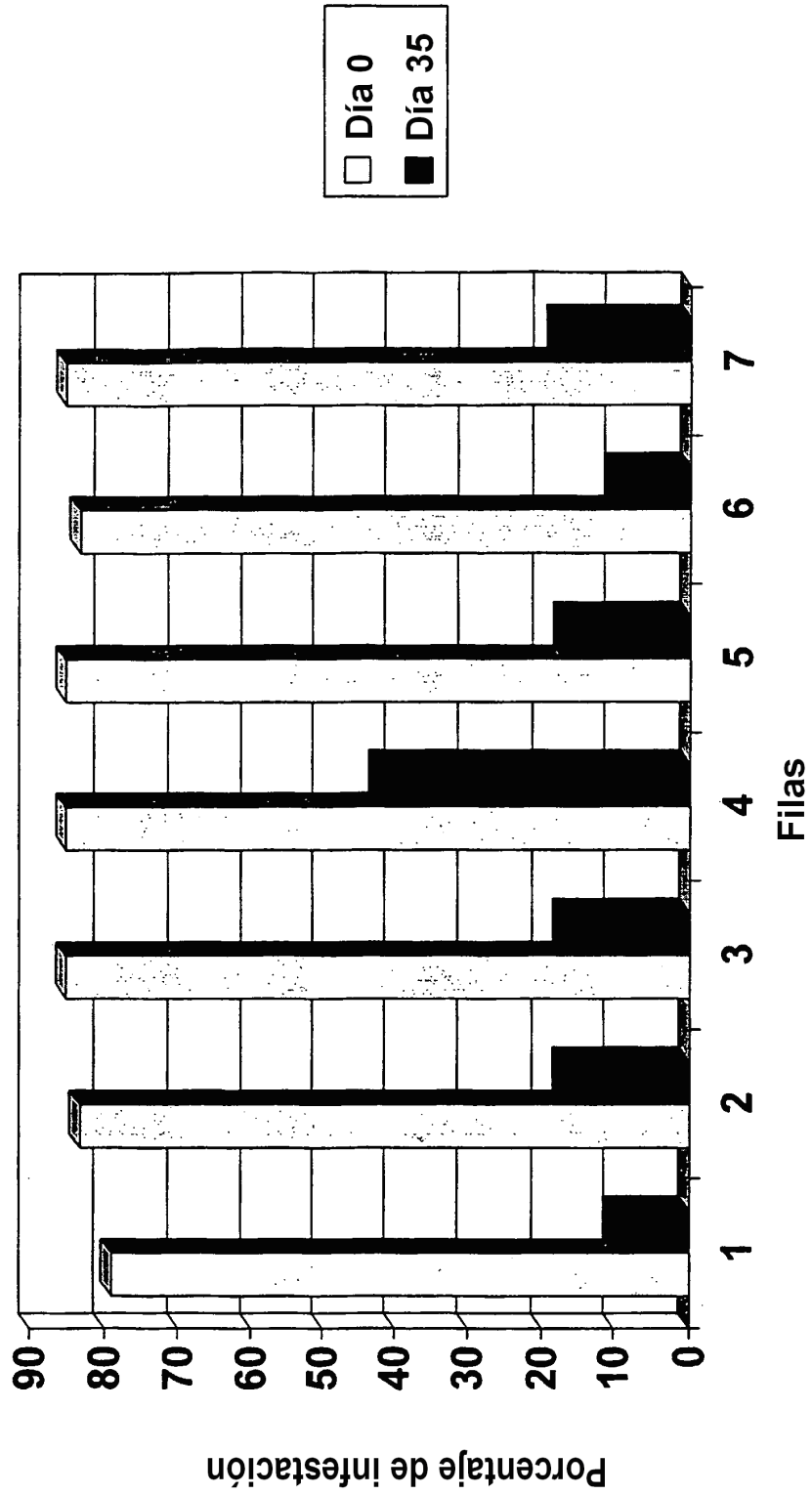


FIGURA 17

# Número de colonias de ácaros por coop

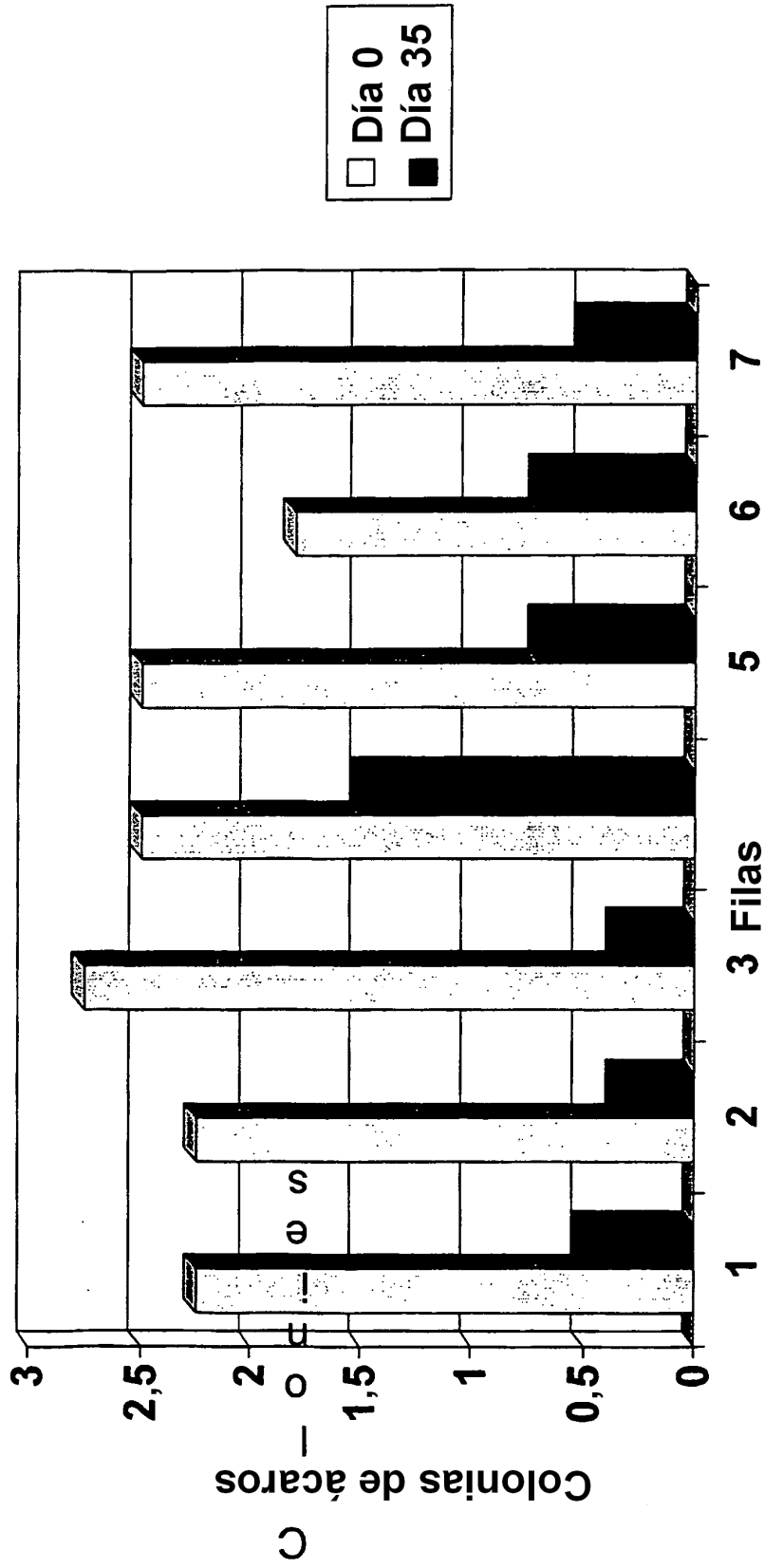


FIGURA 18

# Diámetro de colonias

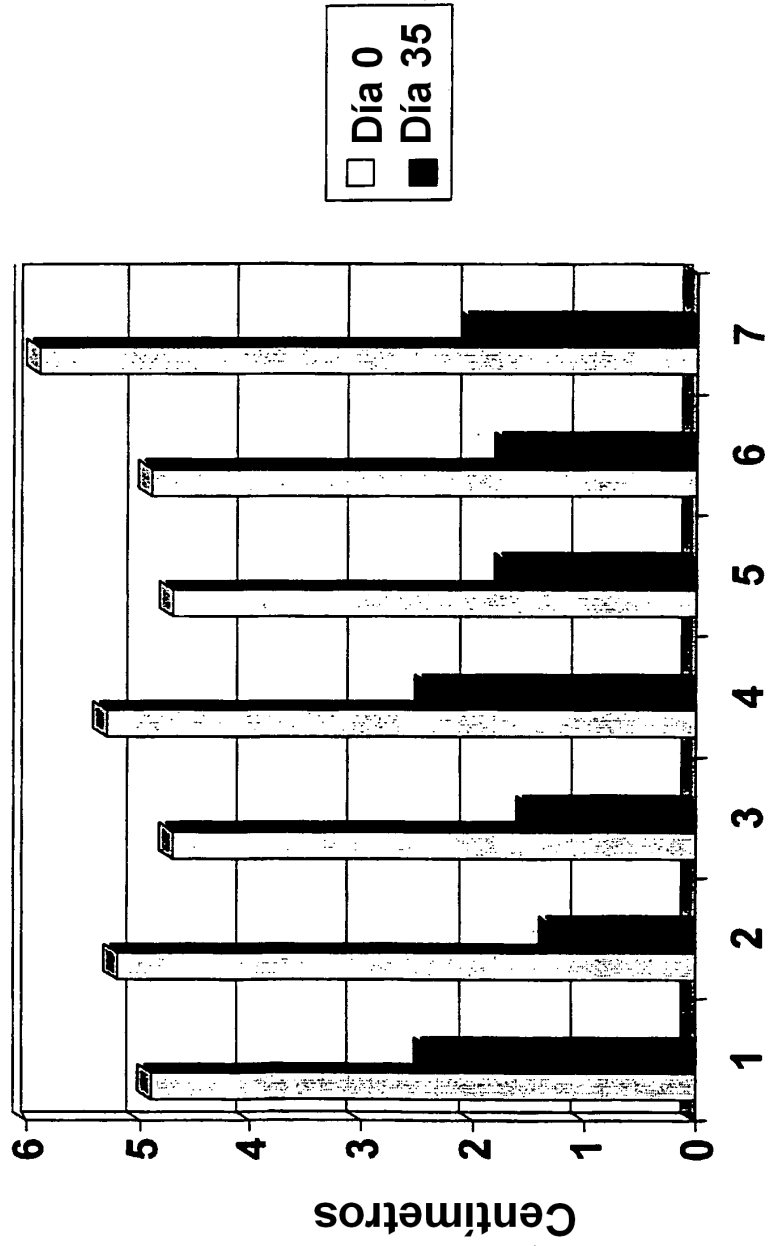


FIGURA 19

# Infestación de excrementos

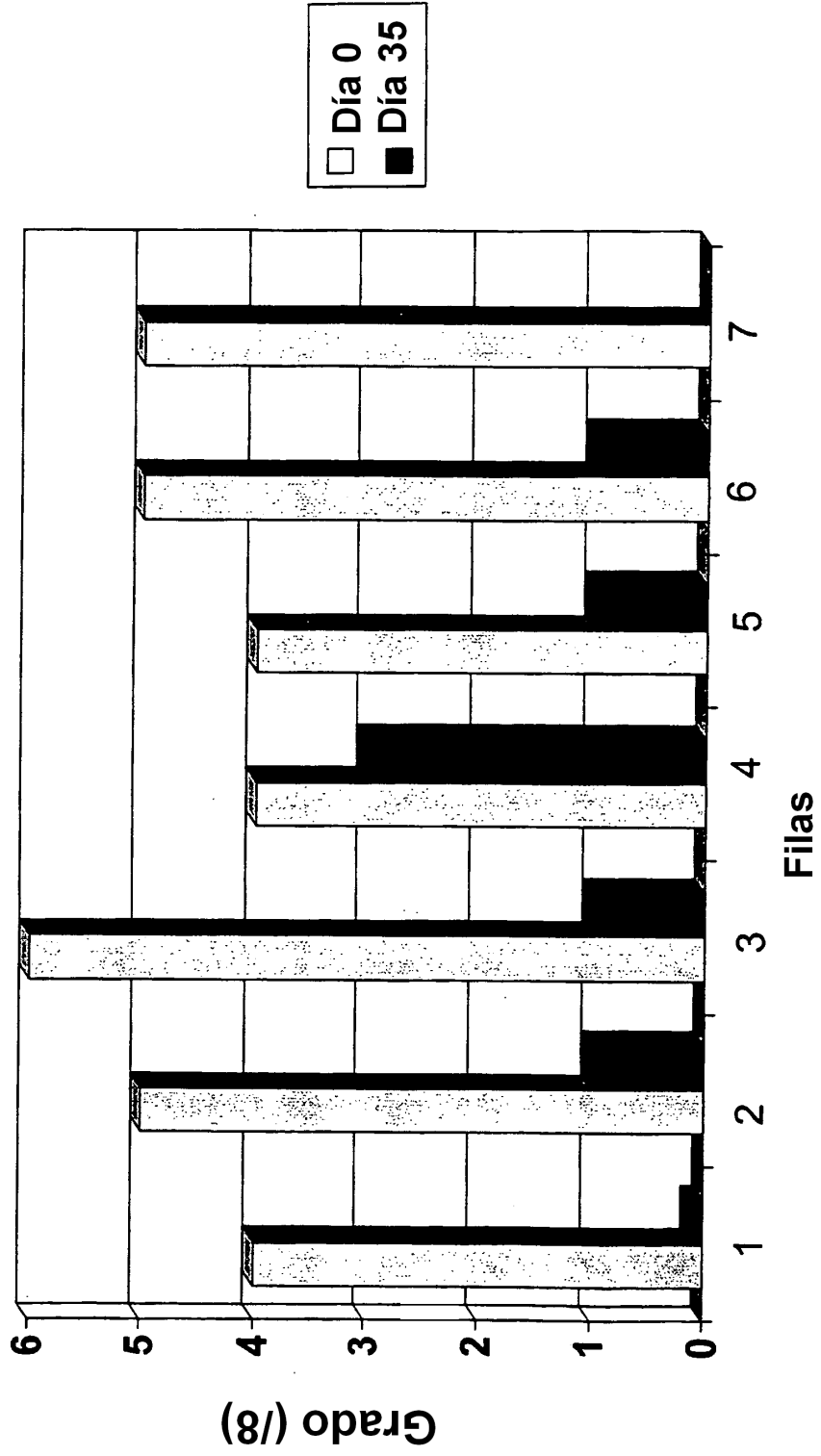
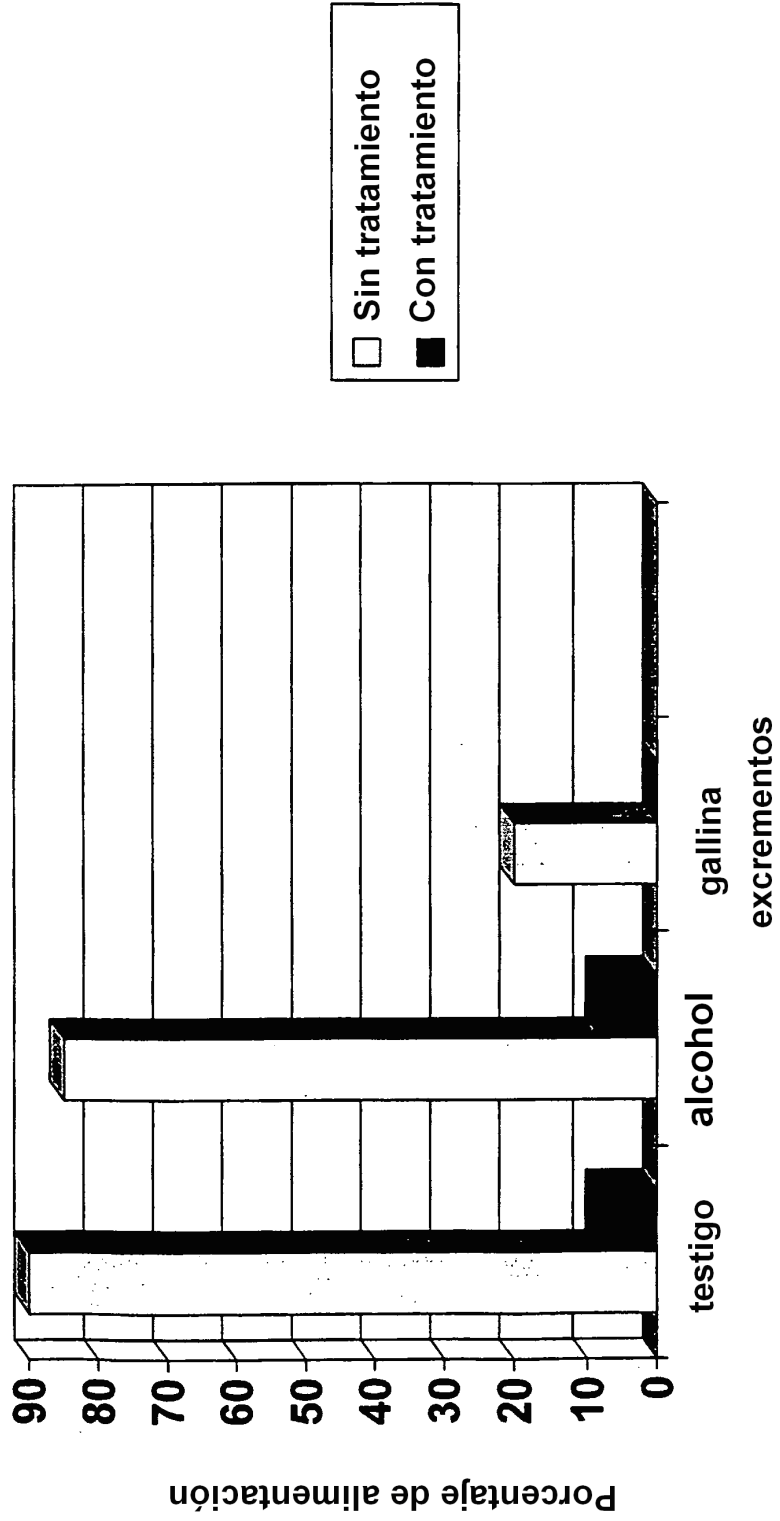


Figura 20

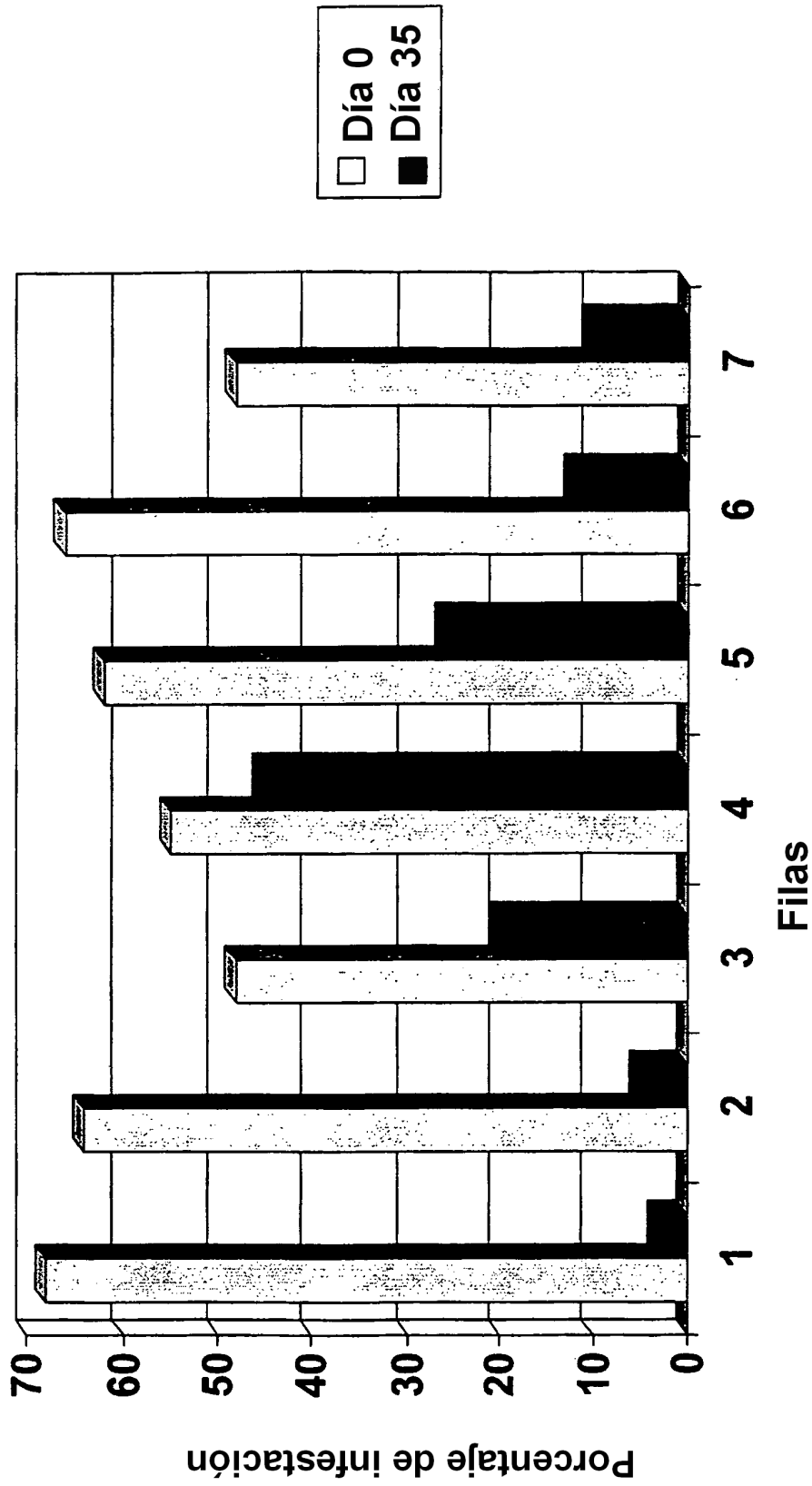
# Ensayo de los excrementos



FFIGURA 21



# Infestación de los soportes de los coops



FFIGURA 22

# Ensayos de las glándulas uropigiales

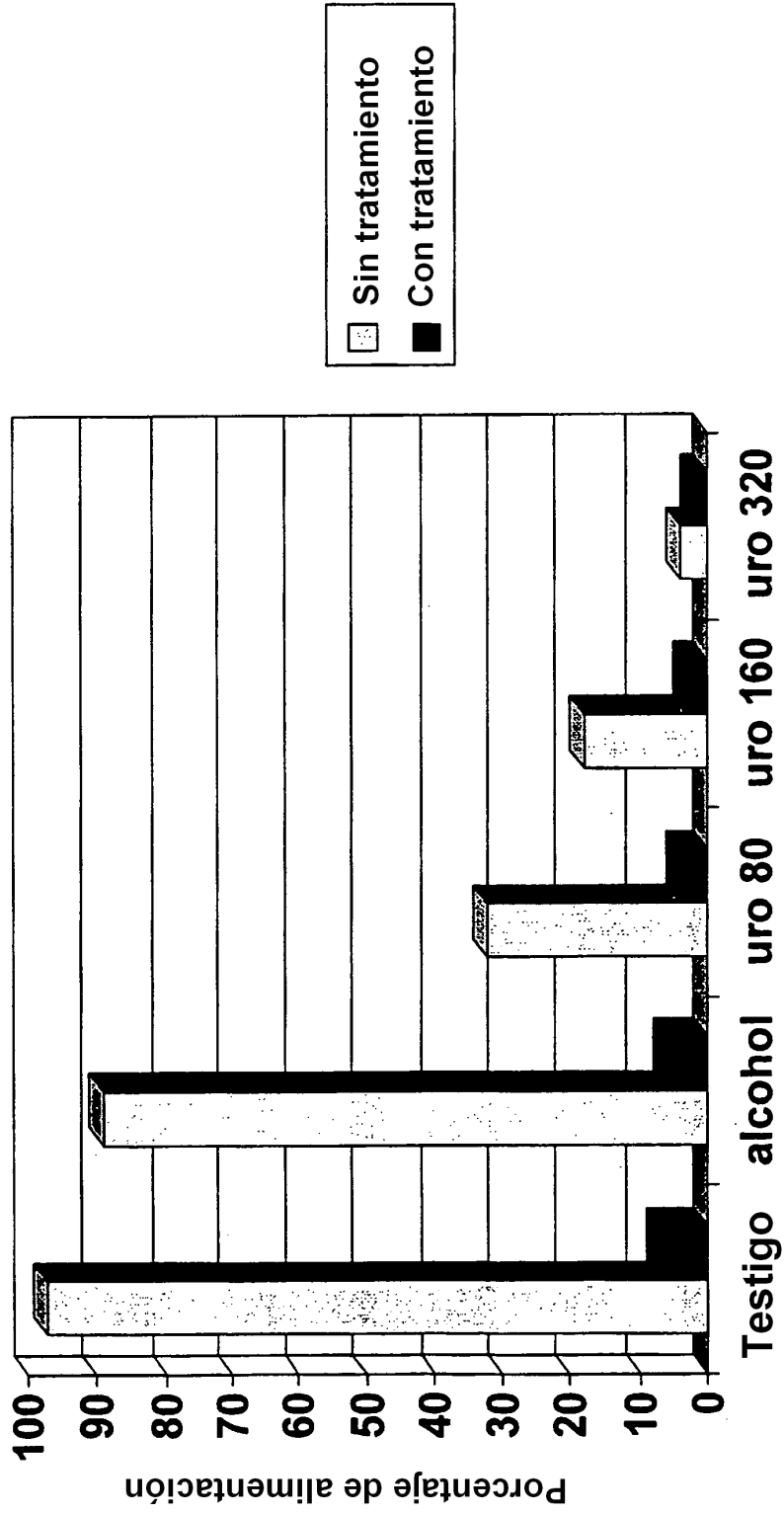
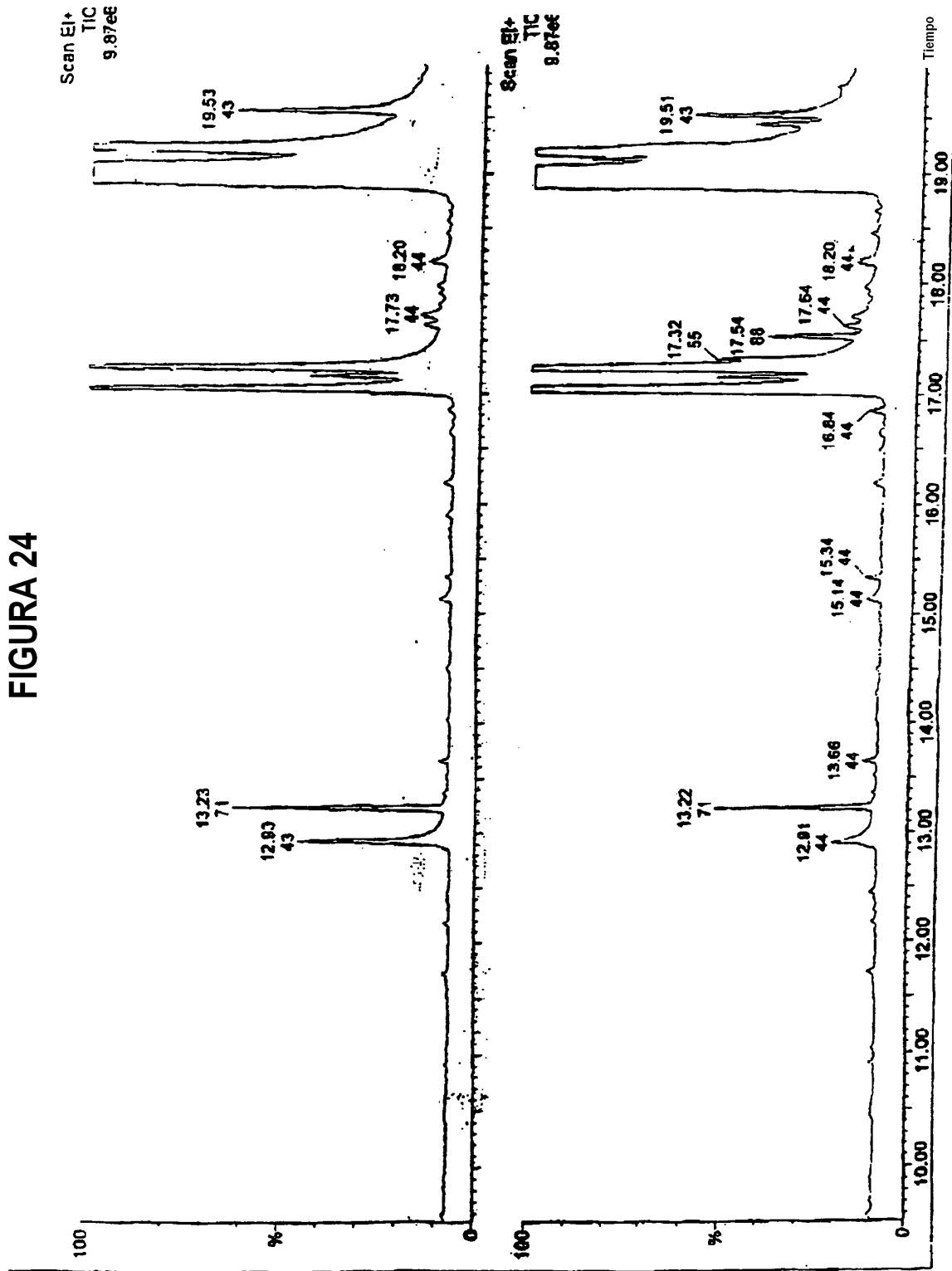


FIGURA 23



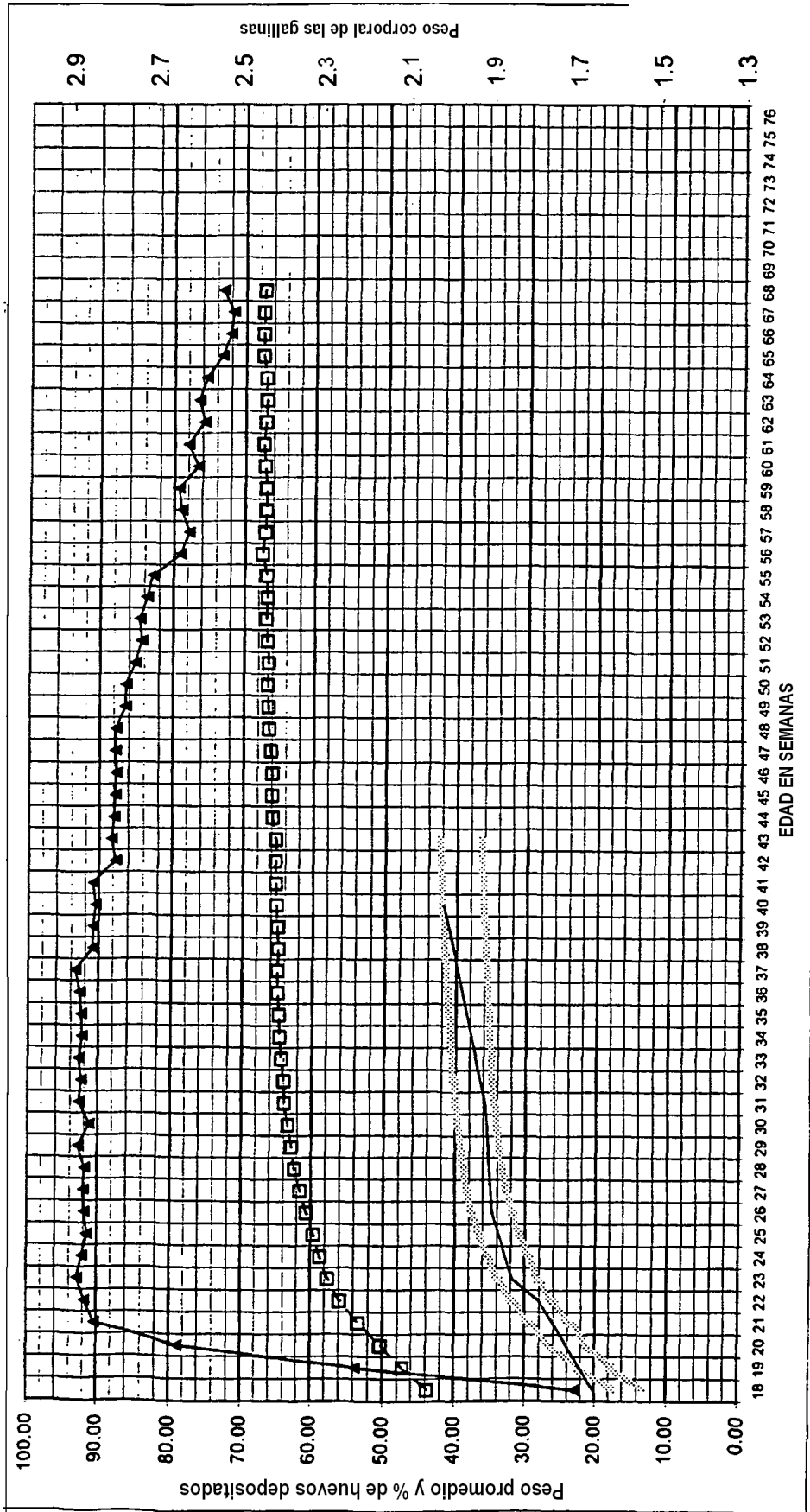


FIGURA 25

Curva teórica

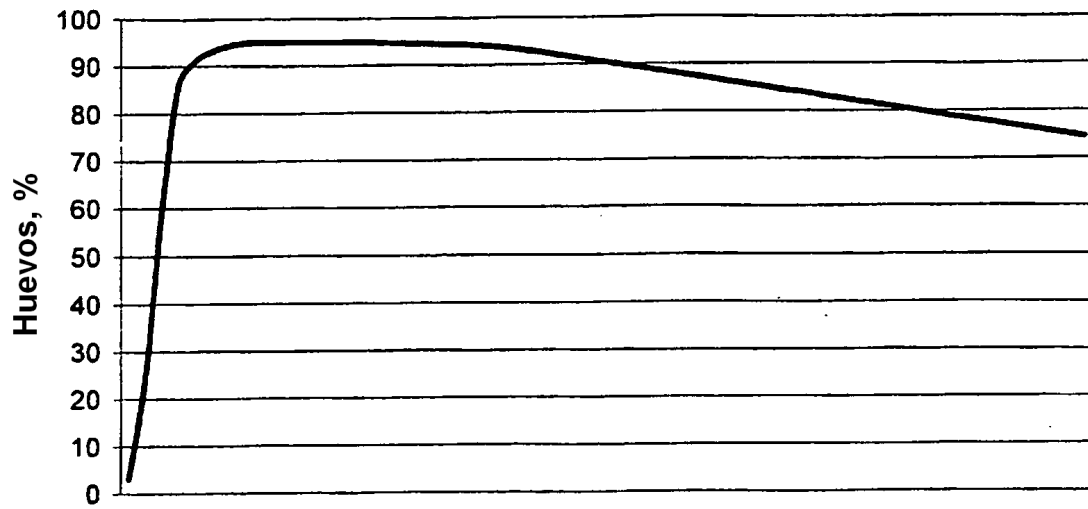


FIGURA 26