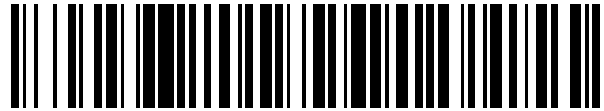


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 557 161**

51 Int. Cl.:

A01N 43/22 (2006.01)
A01P 3/00 (2006.01)
A01P 5/00 (2006.01)
A01P 7/00 (2006.01)
A23K 1/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.05.2006 E 06759878 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2015 EP 1890538**

54 Título: **Producción de peces mejorada**

30 Prioridad:

26.05.2005 US 684886 P

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

22.01.2016

73 Titular/es:

**ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

**DICK, CLAYTON PAUL;
SNYDER, DANIEL EARL y
WINKLE, JOSEPH RAYMOND**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 557 161 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

Producción de peces mejorada

Antecedentes de la invención

5 La pesca extensiva de aguas naturales ha conducido a una reducción en las cantidades de pescado. Ahora se reconoce que pescar a una tasa para mantener poblaciones naturales no proporcionará las necesidades del mundo de pescado como un alimento. Esto ha conducido al desarrollo de la acuicultura industrial, en la que los peces y otras especies acuáticas se producen en un entorno controlado dentro de masas de agua. Estas granjas de peces se pueden establecer en agua oceánica o agua dulce, en función del tipo de peces y del ambiente normal de los mismos. El pescado es, en todo el mundo, la única fuente principal de proteínas y la acuicultura es por lo tanto un medio de producir alimento cada vez más importante. Además, puesto que los peces están en un ambiente controlado, se buscan medios para controlar la enfermedad y aumentar al máximo la producción.

10 Los parásitos, que provocan daño poco aparente en poblaciones de peces silvestres, pueden causar enfermedades de gran importancia en peces de piscifactoría, dando lugar a cambios patológicos, disminución de salud o reducción del valor en el mercado del pescado. A pesar de un progreso considerable en parasitología de peces, todavía existen faltas de datos principales en el conocimiento y control de parásitos de peces. El control de muchas enfermedades parasitarias importantes está todavía lejos de ser satisfactorio y se necesitan opciones adicionales.

15 El desarrollo de la acuicultura durante las últimas décadas ha dado como resultado que se preste mucha mayor atención a los problemas planteados por parásitos y su importancia para la tasa de crecimiento, la eficacia alimentaria y el peso corporal conduciendo a restricciones en el avance y la productividad de la acuicultura. Además de pérdidas directas provocadas por la mortalidad, los parásitos pueden tener impacto considerable en el crecimiento y el comportamiento de los peces, su resistencia a otros factores estresantes, la susceptibilidad a la depredación, etc.; su presencia también puede reducir la comerciabilidad de los mismos.

20 Los crustáceos parásitos son patógenos importantes y las enfermedades provocadas por ellos pueden dar como resultado pérdidas económicas considerables. El grupo más importante entre crustáceos parasitarios son indudablemente los piojos marinos.

25 Piojos marinos es el término usado para describir varias especies de copépodos (un tipo de crustáceo) ectoparasitarios de los géneros *Lepeophtheirus* y *Caligus* que parasitan peces de criadero y pueden causar enfermedades con daño a la epidermis y en casos graves muerte por insuficiencia osmoreguladora o infecciones secundarias. *Lepeophtheirus salmonis* se reconoce ahora como uno de los patógenos más graves de salmón atlántico de piscifactoría marina. Esta especie y *Caligus elongatus* tienen impacto económico sobre salmónidos de piscifactoría en el hemisferio norte. Otros patógenos caligidos para peces criados o salvajes son *C. patulus*, *C. curtus*, *C. clemensi*, *C. rogercressey*; *C. teres*, *C. orientalis*, *C. epidemicus* y *Pseudocaligus apodus*.

30 Los parásitos copépodos adultos más comunes de peces de agua dulce son *Lernaea cyprinacea*, *Eogasilus sieboldi* (y especies relacionadas), *Salmincola californiensis*, *S. edwardsii*, *Achtheres percarum*, *Tracheliastes maculatus* y *Caligus lacustris*. Además, copépodos de *Lernaea* y larvas chalimus de *Achtheres* y *Salmincola* se unen a los filamentos de las branquias y causan hiperplasia epitelial y pueden ser responsables indirectamente de mortandades de peces. Los copépodos son también huéspedes intermedios para parásitos de peces, incluyendo tenias y nematodos. El daño de estos parásitos puede conducir a mortalidades de peces o reducir el valor en el mercado de los productos de pescado. Finalmente, los copépodos sirven como huéspedes intermedios para parásitos que infectan seres humanos y que sirven como vectores de enfermedades humanas graves como cólera.

35 Parásitos adicionales de peces de agua dulce incluyen trematodos (flukes o platelmintos) monogéneos; parásitos protozoarios tales como *Piscinoodinium pillulare*; y *Henneguya spp.*

40 Formaldehído, malatión y compuestos naturales muestran bien eficiencia mala o bien rendimientos terapéuticos inadecuados. Los piretroides son en la actualidad el producto terapéutico más usado contra los copépodos ectoparásitos. También se usan en cantidades significativas diflubenzurón y teflubenzurón añadidos a la comida. Carbarilo y diflubenzurón son eficientes pero los compuestos los hacen inadecuados debido a características toxicológicas ambientales indeseables. Benzoato de emamectina pertenece a la misma familia de fármacos como ivermectina, las avermectinas. Se administra en el alimento y se dice que es eficaz contra todas las fases de la reproducción de los piojos marinos. Hay evidencia creciente de que el benzoato de emamectina puede dañar animales que no son su objetivo. A pesar de estos problemas, la quimioterapia permanece como un componente importante de estrategias de control.

45 El documento US 6.455.504 divulga macrólidos pesticidas como intermedios para preparar análogos de espinosina. Se dice que los macrólidos pesticidas divulgados tienen actividad insecticida y acaricida y son útiles para el control de plagas.

50 El documento WO 2004/065402 divulga derivados de 9-cetoepinosina que están indicados para usar en controlar plagas animales.

El documento WO 2004/014143 divulga una composición de masticación blanda para la administración de un aditivo, por ejemplo, un producto farmacéutico, un producto nutracéutico, una vitamina, un mineral, o una carga y que comprende un componente aromatizante con el fin de mejorar el sabor agradable de la composición de masticación.

5 El documento US 2003/0114312 divulga composiciones insecticidas y acaricidas que incluyen una combinación de un cetoenol cíclico y uno de una lista de 29 otros compuestos, incluyendo espinosad.

El documento WO 00/60952 y Stone J et al., J. Fish Diseases, vol. 22, n.º: 4, julio de 1999 (7-1999), p. 261-270, se refiere al uso de benzoato de emamectina para tratar parásitos de peces, dando un intervalo de dosificación diaria específico y un intervalo de periodo de tratamiento con el fin de conseguir que no haya ninguna toxicidad para las poblaciones de peces.

10 El documento WO 01/11963 se refiere al tratamiento oral de animales de compañía tales como perros, gatos, caballos y conejos con espinosinas ectoparásitas y divulga una formulación de dosis única de una espinosina para administración oral a dicho animal.

La presente invención proporciona una nueva técnica para control de copépodos ectoparásitos y mejora en la producción de los peces.

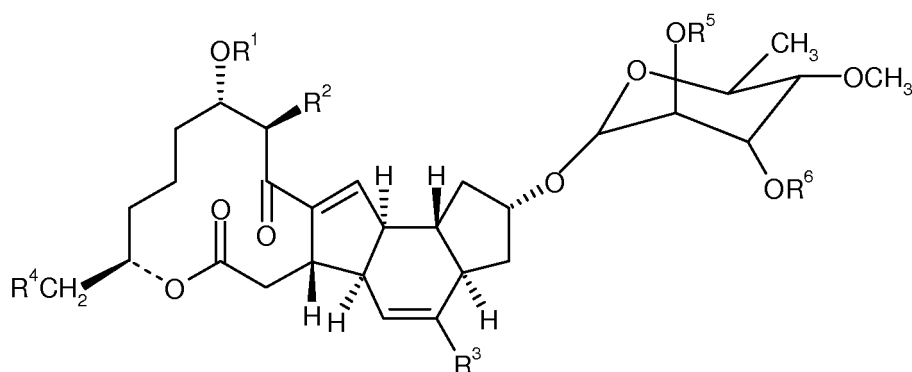
15 Breve resumen de la invención

La presente invención está dirigida al uso de una cantidad eficaz de espinosad o una sal fisiológicamente aceptable del mismo para la preparación de un medicamento para controlar piojos marinos en un pez criado por acuicultura.

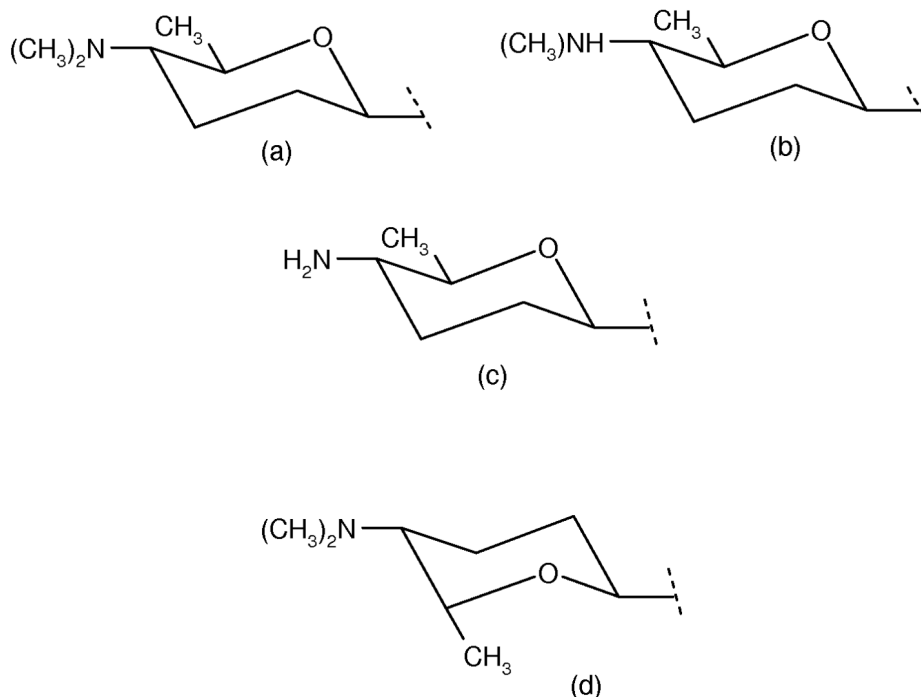
La presente invención está dirigida además a espinosad o a una sal fisiológicamente aceptable del mismo para usar en controlar piojos marinos en peces criados en acuicultura.

20 La presente invención también está dirigida a formulaciones de alimento de los peces que comprenden de 1 a 2500 mg de espinosad o una sal fisiológicamente aceptable del mismo en asociación con y por kg de una composición de alimento para peces.

El producto de fermentación A83543, también conocido como espinosina, incluye una familia de compuestos relacionados (espinosinas) producidos por *Saccharopolyspora spinosa*. Estos son productos de fermentación derivados de forma natural con un perfil de seguridad positivo en contraste con compuestos derivados orgánicamente sintéticos usados en la actualidad (tales como piretroides, organofosfatos, organocloros y carbamatos sintéticos) y que previamente han mostrado presentar actividad insecticida excelente. En consecuencia por el término "compuestos A83543" que tiene el mismo alcance que el término "espinosina o un derivado o una sal fisiológicamente aceptable del mismo" se quiere decir componentes que consisten en un sistema de anillos 5,6,5-tricíclico, fusionados a una lactona macrocíclica de 12 miembros, un azúcar neutro (2N,3N,4N-tri-O-metilrhamnosa) y un aminoazúcar (forosamina). La familia de componentes naturales de A83543 incluye un género que se enseña en la solicitud de patente de EPO N.º: 0375316 y que tiene la siguiente fórmula general:



En la que R¹ es H o un grupo seleccionado de entre



Y R^2 , R^4 , R^3 , R^5 y R^6 son hidrógeno o metilo; o una sal de adición de ácido de los mismos cuando R^1 es distinto de hidrógeno.

5 La familia de compuestos de producto de fermentación A83543 se ha mostrado que comprende compuestos individuales A83543A, A83543B, A83543C, A83543D, A83543E, A83543F, A83543G, A83543H, A83543J, A83543L, A83543M, A83543N, A83543Q, A83543R, A83543S, A83543T, A83543U, A83543V, A83543W, A83543Y. Boeck, et al. describieron espinosinas A-H y J y sales de las mismas en la patente de los EE.UU. N.º: 5.362.634, 5.496.932 y 5.571.901. Mynderse, et al. describieron espinosinas L-N, sus derivados N-desmetilo y sales de los mismos en la patente de los EE.UU. N.º: 5.202.242. Turner, et al. describieron espinosinas QT, sus derivados de N-desmetilo y sales de los mismos en la patente de los EE.UU. N.º: 5.591.606, 5.631.155 y 5.767.253. Las espinosinas K, O, P, U, V, W e Y se describen en el artículo por DeAmicis, C.V., et al. en American Chemical Society's Symposium Series: Phytochemicals for Pest Control (1997), capítulo 11 "Physical and Biological Properties of Spinosyns: Novel Macrolide Pest-Control Agents from Fermentation" páginas 146-154. En la patente de los EE.UU. N.º: 6.001.981, se describen diversos derivados sintéticos de espinosinas y el documento de los EE.UU. 6.455.504, en el que se describen diversos análogos de espinosina. Se proporcionan en estas referencias detalles con respecto a la fermentación y el aislamiento de las espinosinas y procedimientos para preparar derivados sintéticos.

15 Espinosina A (A83543A) fue la primera espinosina aislada e identificada del caldo de fermentación de *Saccharopolyspora spinosa*. Examen subsiguiente del caldo de fermentación reveló que la cepa parental de *S. spinosa* produjo un número de espinosinas (A83543A a J). En comparación con la espinosina A, las espinosinas B a J se caracterizan por las diferencias en los patrones de sustitución en el grupo amino de la forosamina, en sitios seleccionados en el sistema de anillos y en el azúcar neutro. Las cepas de *S. spinosa* producen una mezcla de espinosinas cuyos componentes principales son espinosina A (~85%) y espinosina D (~15%). Estas son las dos espinosinas que en la actualidad se conocen como las más activas como insecticidas.

25 Cada una de las patentes de los EE.UU. y la solicitud de patente EP describen diversos tipos de formulación, actividad parasitocida y opciones de administración en animales y agricultura para las espinosinas y derivados o sales fisiológicamente aceptables de las mismas.

30 Como se establece anteriormente, formulaciones de espinosad (espinosina A y espinosina D, como aproximadamente una mezcla 85:15) están comercialmente disponibles en Dow AgroSciences, 9330 Zionsville Road, Indianápolis, Indiana 46268-1054, EE.UU. y Elanco Animal Health, una división de Eli Lilly and Company, código postal 708, 2001 W. Main Street, Greenfield, Indiana 46140, EE.UU. Además, *S. spinosa* y cepas mutantes se han depositado en la Agricultural Research Service Patent Culture Collection (NRRL) National Center for Agricultural Utilization Research, ARS, USDA, 1815 North University Street, Peoría, Illinois, 61604, EE.UU. (NRRL, 18395, 18537, 18538, 18539, 18719, 18720, 18743, 18823 y 30141 (patente de los EE.UU. 6.455.504).

5 En el procedimiento de evaluación de espinosad para usar en cultivos, se evaluaron ciertos efectos de toxicidad de espinosad en peces y organismos acuáticos específicos. Las metodologías son como consecuencia de deriva externa de pulverización durante la aplicación a cultivos y por escorrentía desde áreas de cultivos tratadas durante y después de tempestades en una masa de agua estándar en el borde de la zona tratada. Estos efectos de toxicidad sobre el pescado y los organismos acuáticos asumen una concentración en agua y se dice que demuestran riesgo mínimo en especies acuáticas que resultarían del uso de espinosad en cultivos.

10 Las espinosinas pueden reaccionar para formar sales. Las sales que son sales fisiológicamente aceptables también son útiles en la presente invención. Las sales se preparan usando procedimientos estándar para la preparación de sales. Por ejemplo, la espinosina A se puede neutralizar con un ácido apropiado para formar una sal adicional ácida. Las sales de adición de ácidos de espinosinas son particularmente útiles. Las sales de adición de ácidos adecuadas representativas incluyen sales formadas por reacción con bien un ácido orgánico o bien un ácido inorgánico tal como, por ejemplo, ácidos sulfúrico, clorhídrico, fosfórico, acético, succínico, cítrico, láctico, maleico, fumárico, cólico, pamoico, múico, glutámico, alcanforado, glutárico, glicólico, ftálico, tartárico, fórmico, láurico, esteárico, salicílico, metanosulfónico, bencenosulfónico, sórbico, pícrico, benzoico, cinámico y similares.

15 Todas las proporciones, porcentajes y partes analizadas en el presente documento están "en peso" a menos que se especifique lo contrario.

El término "controlar o erradicar" se usa para referirse a una disminución en el número de copépodos ectoparasitarios vivos en todas las fases parasitarias (adulto, pre-adultos y chalimus) o de otros ectoparásitos. El grado de reducción de algún modo depende de la tasa de aplicación y el principio activo usado.

20 El término "cantidad eficaz" usado también en el presente documento quiere decir la cantidad que es suficiente para causar una reducción medible en la población de ectoparásitos tratados.

25 El uso de espinosad o de una sal fisiológicamente aceptable del mismo en producción de peces da lugar a numerosas mejoras, aunque no todas tales mejoras se obtendrán en cada modo de realización de la invención. En muchos casos, la práctica de la presente invención da como resultado una velocidad de crecimiento mejorada, una eficacia alimentaria mejorada, una calidad de carne mejorada, una ganancia de peso mejorada y un peso corporal mejorado. La puesta en práctica de la invención también puede dar lugar a aroma o textura mejorados y a otros beneficios.

Por "pez" se quiere significar cualquier miembro del filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* y superclase *Pisces*. La presente invención se puede poner en práctica con cualquiera de la considerable diversidad de especies de peces.

Las especies representativas incluyen las siguientes:

- 30 Bagre
- Pez gato americano (*Ictalurus punctatus*)
 - Bagre torito negro (*Ictalurus melas*)
 - Bagre torito amarillo (*Ictalurus natalis*)
 - Barbú torito (*Ictalurus nebulosus*)
- 35 Carpa (*Cyprinus carpio*)
- Carpín (*Carassius carassius*)
- Trucha
- Trucha arco iris (anteriormente llamada *Salmo gairdneri*, ahora llamada *Oncorhynchus mykiss*)
 - Trucha común (*Salmo trutta*)
- 40 Trucha de manantial (*Salvelinus fontinalis*)
- Salmón
- Salmón común (*Salmo salar*)
 - Salmón plateado (*Oncorhynchus kisutch*)
 - Chinuk o salmón real (*Oncorhynchus tshawytscha*)
- 45 Tenca (Tinca tinca)
- Rutilo (*Rutilus rutilus*)

- Lucio europeo (*Esox lucius*)
- Lucioperca (*Lucioperca lucioperca*)
- Lenguado
- Rodaballo
- 5 Jurel (*Seriola quinqueradiata*)
- Róbalo
- Róbalo de boca pequeña (*Micropterus dolomieu*)
- Perca atruchada (*Micropterus salmoides*)
- Róbalo rallado (*Morone saxatilis*)
- 10 Sabalote (*Chanos chanos*)
- Mojarra (*Sarotherodon* sp.)
- Tilapia (*Tilapia* sp.)
- Mújol (*Mugil cephalus*)
- Anguilas
- 15 Anguila americana (*Anguila rostrata*)
- Anguila europea (*Anguila anguilla*)
- Anguila japonesa (*Anguila japonicus*)
- Bacalao
- Bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*)
- 20 Otras especies con las que la presente invención se puede poner en práctica serán patentes para los expertos en la técnica.
- 25 En acuicultura, un modo práctico de administrar una sustancia es en el alimento. De hecho, los alimentos para peces son un artículo estándar de comercio, a menudo diseñado para una especie individual. Típicamente, la alimentación está en forma de polvo, partículas, pedazos y pellas dependiendo de las especies de peces en particular, la fase de desarrollo y otros factores conocidos por aquellos expertos en la técnica. Por lo tanto, en poner en práctica la presente invención, mientras que otras vías de administración se pueden emplear, el procedimiento preferido de administración está en o sobre un alimento para peces y preferentemente en o sobre un alimento para peces nutricionalmente equilibrado. El espinosad o la sal fisiológicamente aceptable se dispersa en o se pone una capa superficial sobre el alimento para peces por técnicas conocidas.
- 30 El término alimento, en general, se usa para describir un producto que cumple las necesidades nutricionales diarias del pez alimentándolo con ello, es decir ello contiene todos los nutrientes esenciales. El término "alimento" en comparación se usa para referirse a un componente del pienso completo, tal como proteína o aceite de pescado o un componente que contiene las proteínas y los aceites necesarios pero sin el contenido apropiado en vitaminas y minerales. El término nutricionalmente equilibrado o completo incluye tanto los alimentos completos como los
- 35 piensos completos.
- Aunque frecuentemente se denomina aceite de pescado, un término más preciso es quizá lípido u ambos términos se usan intercambiamente.
- 40 Las formulaciones de la presente invención pueden comprender o se pueden usar en la preparación de una formulación concentrada líquida o seca referida como un artículo medicado de tipo A según se define en el documento Código de los Estados Unidos de Regulaciones Federales, Título 21, Sección 558. Como se conoce por los expertos en la técnica, un artículo medicado de Tipo A se puede usar en la preparación de otro artículo medicado de Tipo A o de alimento medicado de Tipo B o de Tipo C, tanto el Tipo B como el Tipo C son según se definen en el documento Código de los Estados Unidos de Regulaciones Federales, Título 21, Sección 558. En artículos medicados de Tipo A, el/los agente(s) activo(s) están en una concentración más alta que la adecuada para la
- 45 administración directa y requieren dilución para dichas cantidades de administración directa. De forma similar, un alimento medicado de tipo B se puede utilizar en la preparación de otro alimento medicado de tipo B o de un alimento medicado de tipo C. Un alimento medicado de tipo B se prepara diluyendo un artículo medicado de Tipo A u otro

alimento medicado de tipo B. Un alimento medicado de tipo C es adecuado para administración directa sin la necesidad de mezclado o dilución adicionales.

En general, los artículos medicados de Tipo A líquidos se pueden mezclar bien en suplementos líquidos o bien en suplementos secos o en alimentos finales. Un artículo medicado de tipo A de líquido concentrado o alimento medicado de tipo B de líquido concentrado se puede aplicar a alimentos secos para secar alimentos por una barra de arrastre en el mezclador, pulverizándolo sobre los alimentos mezclando mientras, o por otras técnicas conocidas por aquellos expertos en la técnica. Se cree que el concentrado líquido puede mezclarse en suplementos líquidos de alimentación o pulverizarse sobre alimentos secos o dispensarse por máquinas convencionales diseñadas para alojar formulaciones líquidas.

El alimento medicado de tipo B puede ser líquido o seco y es intermedio entre un artículo medicado de tipo A y un artículo medicado de tipo C, que es un alimento completo que se suministra directamente a los peces. La formulación de tipo B contiene una cantidad sustancial de nutrientes, que incluye vitaminas y/o minerales y/u otros ingredientes nutricionales en una cantidad de no menos del 25 % en peso de la formulación. La cantidad de agente farmacológicamente activo de Categoría I en los alimentos medicados de Tipo B no puede exceder de 200 veces el nivel de uso diario máximo en un alimento final o alimento medicado de tipo C. Categoría I es la designación usada por el documento Código de los Estados Unidos de Regulaciones Federales para los agentes activos, por lo que no se requiere período de retirada en el nivel de uso más bajo en cada especie para la que se aprobaron.

La composición de alimentos medicados de tipo Tipo B varía de diluyentes fisiológicamente aceptables para concentrados convencionales diseñados para proporcionar proteínas, vitaminas, minerales, aminoácidos, u otros ingredientes nutritivos. Los alimentos medicados de tipo B pueden ser una mezcla simple de un fármaco con diluyentes adecuados, en cuyo caso las principales preocupaciones son homogeneidad, segregación durante el transporte y estabilidad química.

Cada uno de los artículos y alimentos medicados de tipo A, de tipo B y de tipo C de la presente invención se preparan usando mezcladores convencionales reconocidos en la técnica, molinos de martillos, molinos de rodillos, sistemas de pulverización o extrusoras, equipo y técnicas de elaboración asociados preparando formulaciones de la presente invención. Este equipo está disponible comercialmente por completo.

Existen varias formas de alimento de los peces, incluyendo pellas húmedas, humedecidas, sedimentadas al vapor y secas extrudidas. Sin embargo, se usan generalmente dos tipos básicos de alimento formulado usado en cría en de peces intensiva: dietas secas y semi-humedecidas. Las dietas son similares, siendo la diferencia básica que los sedimentos semihumedecidos contienen una proporción mayor de pescado crudo y subproductos que contribuyen a un nivel de humedad más alto para el producto final. Los alimentos humedecidos tienen alguna ventaja en regiones costeras donde el pescado crudo recién preparado y subproductos en bruto recién preparados están regularmente disponibles y son económicos. También es posible que las características físicas de sedimentos humedecidos sean más agradables para algunas especies de peces. Sin embargo, no hay evidencia de que tales alimentos sean nutricionalmente superiores a los alimentos secos. Los alimentos humedecidos pueden contener patógenos dado que los ingredientes alimentarios están solo sometidos a tratamiento de calor moderado (la pasteurización). En contraste con dietas humedecidas, los alimentos secos se tratan con calor y están generalmente libres de patógenos. También son fáciles de transportar y almacenar. La adquisición en masa y el almacenamiento de ingredientes de calidad secos son posibles y garantizan un suministro continuo de alimentos de calidad. Los ingredientes secos sobre el mercado de productos básicos se definen como de más calidad que los productos de pescadería crudos y se pueden suministrar regularmente. Por tanto es posible formular alimentos secos de forma más precisa con el conocimientos adecuado de nutrición de peces. La mayoría de nutrientes en alimentos secos son estables a temperatura ambiente y por lo tanto los alimentos secos pueden almacenarse con seguridad sin congelar durante periodos que dependen de condiciones de almacenamiento (aproximadamente 3 meses en una localización fresca, sombreada y bien ventilada). Los alimentos secos usados ampliamente en la actualidad puede dividir en tres tipos: (1) alimentos sedimentados por vapor; (2), pellas de hundimiento lento, parcialmente extrudidas y (3) pellas expandidas y flotantes. Suministrar como alimento pellas secas a mano o con alimentadores automáticos es mucho más simple que lo de alimentos humedecidos. El problema de la aceptabilidad de alimentos secos por algunas especies de peces puede normalmente resolverse por mejores técnicas de alimentación y de gestión de cría de los peces. De otro modo, el alevín que tiene dificultad para aceptar alimentos secos puede iniciarse con alimento semihumedecido y gradualmente variar a alimento seco en 3-5 semanas. Alimentos de peces secos debe sedimentarse y/o desmenuzarse tal como para ser duraderos y estables en el agua. Los alimentos separados deben tener características físicas y de textura deseables y ser de tamaños correctos para ser fácilmente aceptables por diferentes tamaños de peces. Los alimentos disgregados y no comidos contaminan el agua y crean tensiones de oxígeno bajo y nitrógeno alto y desechos orgánicos, con efectos graves en crecimiento y salud. Algunos de los factores importantes en fabricar un alimento duradero, de pescado seco sin contrapartidas son /1) propiedades físicas de los ingredientes, (2) tamaño de partícula de los ingredientes, (3) tiempo de acondicionamiento y temperatura en el sistema de pulverización, (4) calidad de suministro de vapor, (5) presión de compresión a través del troquel y (6) eficacia de cribado/clasificación y pulverización de grasa.

Los alimentos para peces se elaboran en general a una fórmula específica para las especies objetivo acuáticas que se alimentan y para el sistema de producción acuático deseado.

Aunque las dietas de agua dulce más templada pueden basarse grandemente en el uso de fuentes de proteínas y energía vegetales y las dietas marinas de agua fría se basan grandemente en el uso de pescado y otros subproductos de pescadería, puede haber diferencias regionales que reflejen el uso óptimo de formulación de ingredientes disponible localmente y/o de coste mínimo.

5 En la mayoría de molinos de alimentos los cereales secundarios y posiblemente otros ingredientes serán molidos en un molino de martillos, en un molino de rodillos o serán preparados de otro modo por medios apropiados para permitir el mezclado uniforme de los ingredientes para especificaciones de fórmulas y procesamiento adicional por sistema de pulverización o extrusión al producto enfriado y finalizado. El alimento, apropiadamente enfriado y seco después del procesamiento, está después listo para administración por ensacado o en masa a la granja.

10 En acuicultura los tamaños de partículas alimentarias son típicamente menores, algunos tan pequeños como de 50 micrómetros para permitir mezclado, granulado o extrusión correctos de la alimentación.

Un factor importante es el procedimiento de acondicionamiento y de cocinado de la pulpa, si se va a sedimentar o a extrudir (o un sistema que emplea los principios de ambos), el almidón debe gelatinizar de modo que el alimento sea digerible y mantenga su integridad en agua. Esto asegurará que los nutrientes de alimentos se consumieron por el animal y no finalizaron como fertilizante o contaminante potencial en el procedimiento de producción acuática.

15 En general, el granulado es menos caro que la extrusión y puede ser rentable en función de una diversidad de factores incluyendo el tipo y comportamiento de especies que se están cultivando, los tipos de ingredientes disponibles y los recursos del encargado de moler los alimentos.

20 En general, las sustancias que se pueden incluir en alimento de los peces y piensos incluyen harina de pescado, ensilaje de pescado (pescado hidrolizado), carbohidrato vegetal (tal como de harina de trigo, harina de maíz, harina de soja, etc.), aceite de pescado, aceite vegetal, agentes colorantes, vitaminas, minerales, productos farmacéuticos (tales como antibióticos, promotores del crecimiento, etc.) y proteínas de plantas, en especial proteínas de almacenamiento incluyendo gluten.

25 Estas sustancias adicionales pueden servir para proporcionar una dieta equilibrada para el alimento de los peces con la composición nutricional; pueden servir para ajustar el equilibrio lípidos/proteínas, aceites de pescado o vegetales se pueden usar para incrementar el contenido de lípidos; pueden, como los agentes colorantes, usarse para producir la carne de pescado de piscifactoría de forma que se parezca más a la carne de peces silvestres, lo que es particularmente deseable en el salmón de piscifactoría; o pueden servir para mejorar o proteger la salud de la criatura que recibe los alimentos, tal como donde se usan antibióticos. El uso de proteínas de almacenamiento de plantas, en particular gluten, sin embargo es deseable ya que mejora la textura, la resistencia física y la capacidad de retención de lípidos del producto.

30 Por tanto con tales sustancias adicionales incluidas, el producto es un alimento completo, especialmente un alimento en forma de pella o un alimentos o pienso en forma granular (tal como en forma de polvo, de granos o de harina) que comprenden de 1 a 2500 mg de espinosad o una sal fisiológicamente aceptable del mismo por kg de alimentos o pienso.

35 Típicamente el contenido en proteínas será del 30 al 60 % en peso, preferentemente del 35 al 58 % en peso, más preferentemente del 40 al 55 % en un peso seco.

El producto tendrá preferentemente un contenido lipídico del 8 al 35 % en peso en una base en peso seco, más preferentemente del 10 al 30 %.

40 Vitaminas, agentes colorantes, productos farmacéuticos y minerales forman generalmente solo una porción menor del producto, tal como de hasta el 10 % en peso en una base sólida seca. Las cantidades apropiadas se pueden calcular fácilmente a partir de las dosificaciones adecuadas y tasas de consumo de alimentos para que el pescado reciba los alimentos.

45 Los carbohidratos, tales como almidón de plantas digerible, por ejemplo, almidón de trigo, constituyen en general hasta un 20 % en peso en una base de peso seco del producto, preferentemente del 5 al 15 %.

El contenido en agua de los alimentos será del 0,5 al 10 % para alimentos secos, preferentemente del 2 al 9 % y más en particular del 3 al 8 %. Para alimentos húmedos, el contenido en agua será mayor del 10 % al 70 %.

50 La presente invención contempla adicionalmente un alimento sólido que comprende una formulación de la presente invención que contiene espinosad o una sal fisiológicamente aceptable del mismo y alimento de los peces que se pueden administrar a pescado o diluirse con materia de alimentos de pescado para proporcionar una composición de alimentos completos.

La cantidad de espinosad o sal fisiológicamente aceptable que se va a emplear variará con la mejora específica deseada, la especie de pez, la edad del pez y otros factores conocidos por los expertos en el campo de la acuicultura. En general, una concentración en o sobre el alimento de los peces desde 1 hasta 2500 mg por kg de alimento de los

peces proporcionará buenos resultados. En muchos casos, las concentraciones en el intervalo de 75-2250 mg por kg serán suficientes.

La invención se ilustra por los siguientes ejemplos.

Experimento 1

5 Espinosad para el tratamiento de infestaciones por piojos marinos en salmón del atlántico

Determinar la eficacia de espinosad para el tratamiento de infestaciones de piojos de salmón (*Lepeophtherius salmonis*) de salmón atlántico (*Salmo salar*).

Los peces se aclimatarán para un sistema de recirculación y se infestarán artificialmente con piojos marinos. Espinosad se administrará, al variar los niveles de dosis, a grupos de peces por medio de alimentos revestidos en su parte superior. Los peces serán mantenidos durante un periodo de 24 días después de la exposición y se examinarán para determinar el nivel de infestación. Se hará una determinación de la eficacia de espinosad a dosis variantes y se llevará a cabo análisis de coste/beneficio.

Espinosad se incorporará dentro de, o en una capa superficial sobre, dietas de producción de acuicultura de salmón atlántico a cero y a tres tasas de inclusión de 250 mg, 750 mg y 2250 mg/kg de la dieta para producir las dietas experimentales (diseño de estudio 4 x 2 con 30 salmones del atlántico por unidad de experimentación). Todos los peces de prueba se identificarán de forma única, se pesarán y se medirán antes del comienzo del estudio. El total de la población de prueba de salmón atlántico (est., 150 a 300 g de peso corporal) se infestará con *L. salmonis* por un modelo de exposición de laboratorio. Después de unión segura de los parásitos, el salmón atlántico infestado se transferirá a tanques de mantenimiento experimentales individuales y se alimentará con la dieta experimental designada para la duración prescrita de 7 días. Las dietas se codificarán y la composición de dieta se mantendrá oculta a todo el personal de investigación en el estudio. Aproximadamente 24 días después de la exposición, el salmón se someterá a eutanasia por una sobredosis de anestésicos, se contarán los piojos de mar, se recogerán y preservarán en fijador, para recuento y los pesos corporales y longitudes del salmón se medirán. Se analizarán recuentos de piojos marinos para determinar eficacia de los regímenes de tratamiento y las ganancias de peso se analizarán para indicación de impacto de los regímenes de tratamiento en el crecimiento del salmón.

Tabla 1

<u>Incremento de peso promedio por espinosad suministrado como alimento durante 4 semanas y durante 2 semanas adicionales</u>		
<u>Espinosad de dieta (mg/kg)</u>	<u>Peso de los peces (g)</u>	<u>Aumento de peso en porcentaje</u>
0		
250		
750		
2250		

Formulación 1

<u>Composición de dieta basal para pez gato americano</u>	
<u>Ítem</u>	<u>Cantidad</u>
Ingrediente (g/100 g):	
Harina de pescado de lachas	12,0
Harina de soja descascarada	53,5
Moliendas de trigo	10,0
Maíz	21,2

ES 2 557 161 T3

(continuación)

<u>Composición de dieta basal para pez gato americano</u>	
<u>Ítem</u>	<u>Cantidad</u>
Fosfato dicálcico	1,0
Premezcla de microminerales ¹	0,1
Premezcla de vitaminas ²	0,2
Aceite de lachas	2,5
Nutriente:	
Proteína en bruto (%)	36,2
Grasa en bruto (%)	5,7
Energía digerible (kcal/g)	3,2
P/E (mg proteína/kcal DE)	11
<p>¹ La mezcla de microminerales fue la misma que se describe por Reis, et al. [(1989). Protein-to-energy ratios in production diets and growth and body composition to channel catfish. Aquaculture, 77: 21-27] y se proporcionó lo siguiente (mg/kg de la dieta): Zn, 150; Fe, 44; Mn, 25; I, 5; Cu, 3; Se, 0,25.</p> <p>² La premezcla de vitaminas proporcionó lo siguiente (mg/kg de dieta) : tiamina, 20; cloruro de colina, 2.000; niacina, 150; riboflavina, 20; piridoxina, 20; ácido fólico, 5; pantotenato de calcio, 200; cianocobalamina, 0,06; retinol como (acetato de retinilo) 4.000; rac-alfa-tocoferol total, 50; colecalfiferol (1.000.000 U.I./g), 2; menadiona, 10; biotina, 1; se le añadió ácido L-ascórbico, 100; etoxiquina (un antioxidante), 200.</p>	

Formulación 2

<u>Composición de sedimento semihúmedecido para chinuk</u>	
<u>Ingrediente</u>	<u>(%)</u>
Harina de anchoas	55
Pescado hidrolizado condensado ^a	20
Moliendas de trigo	14
Suero de leche	2
Harina de krill	3
Cloruro de colina	1
Mezcla de vitaminas ^b	2
Mezcla de minerales ^c	1
Carboximetilcelulosa	0,5
Goma guar	0,5
<p>^a Residuos de procesamiento y captura accesoria.</p> <p>^b Cada kilogramo de premezcla suministra lo siguiente: vitamina E 15.200 U.I.; biotina 158 mg; vitamina B12 4 mg; ácido fólico 2200 mg; inositol 52.800 mg; menadiona 1220 mg; niacina 29.500 mg; ácido D-pantoténico 14.100 mg; piridoxina 4100 mg; riboflavina 7040 mg; tiamina 5720 mg.</p> <p>^c Suministró lo siguiente como mg kg⁻¹ de premezcla (I, 1000; Mn, 10.500; Zn, 7450; Cu 1550; Se, 160).</p>	

Formulación 3

<u>Composición de sedimento flotante para salmón atlántico</u>	
Ingredientes (g kg ⁻¹)	
Harina de arenques noruegos ^a	480
Harina de soja	220
Almidón gelatinizado (trigo)	210
Aceite de pescado	50
Mezcla de vitaminas	20
Mezcla de minerales	10
Alginato de sodio	10
Composición química	
Humedad (%)	9,1
Proteína (N X 6,25) (% de DM)	47,2
Grasa (% DM)	10,7
Energía en bruto (kJ g ⁻¹ de DM)	20,7
Composición digerible	
Proteína digerible (% de DM)	43,9
Energía Digerible (kJ g ⁻¹ de DM)	18,5
<u>Composición de sedimento flotante para salmón atlántico</u>	
Ingredientes (g kg ⁻¹)	
Proteína digerible/proporción de energía digerible (mg kJ ⁻¹)	23,7
^a Proteína en bruto al 70 %.	
DM, materia seca.	

Formulación 4

<u>Composición de sedimento flotante para tilapia del Nilo</u>	
<u>Ingredientes</u>	<u>(%)</u>
Harina de pescado	10
Torta de semillas de soja	30
Torta de colza	25
Trigo	26
Premezcla de vitaminas ^a	1

ES 2 557 161 T3

(continuación)

<u>Composición de sedimento flotante para tilapia del Nilo</u>	
<u>Ingredientes</u>	<u>(%)</u>
Premezcla de vitaminas ^b	5
Aceite vegetal	2
Materia seca	92,3
% de materia seca	
Proteína en bruto	35,6
Lípido en bruto	2,1
Ceniza	11,2
Fibra	6,6
Energía en bruto (kJ/g)	17,6

^a Premezcla de vitaminas (mg/kg) : tiamina, 10; riboflavina, 20; piridoxina, 10; cobalamina, 2; retinol, 4; colecalciferol, 0,4; filoquinona, 80; ácido fólico, 5; pantotenato de calcio, 40; inositol, 400; niacina, 150; tocoferol, 60; polvo de trigo, 218,6; colina, 6000; ácido ascórbico, 500.

^b Premezcla mineral (g/kg) : NaCl, 0,25; MgSO₄, 3,75; KH₂PO₄, 8; Ca (H₂PO₄), 5; FeSO₄, 0,72, (CH₂CHCOO)₂Ca.5H₂O, 0,88; ZnSO₄.7H₂O, 0,088; MnSO₄.4H₂O, 0,040; CuSO₄.5H₂O, 0,008; CoCl₂.6H₂O, 0,00025; KIO₃.6H₂O, 0,00075; polvo de trigo, 0,112.

Formulaciones 5-8

<u>Composiciones de sedimentos flotantes para salmónidos</u>				
Ingredientes	5	6	7	8
Harina de pescado, arenque	20	35	18	18
Sangre ingerida, secado por pulverización	9	9	-	-
Harina de gluten de maíz	17	15	49	37,6
Harina de soja	12	14	-	-
Harina de aves de corral	-	-	-	13
Levadura secada de cerveza	-	-	6	-
Moliendas de trigo	20	-	-	-
Suero de leche	8	10	11	9
Premezcla de vitaminas	0,5	0,5	1	0,5
Premezcla de minerales	0,5	0,5	1	0,5
L-lisina	-	-	-	1,4
Aceite de pescado	13	16	14	20

ES 2 557 161 T3

(continuación)

<u>Composiciones de sedimentos flotantes para salmónidos</u>				
Composición digerible				
Proteína digerible, %	37	44	44	42
Energía Digerible, MJ/kg	17	20	20	21

REIVINDICACIONES

1. Uso de una cantidad eficaz de espinosad o una sal fisiológicamente aceptable del mismo para la preparación de un medicamento para controlar piojos marinos en un pez criado por acuicultura.
- 5 2. El uso de la reivindicación 1 en el que el pez se selecciona entre: un bagre, una carpa, un salmón, una trucha, un jurel y un róbalo rayado.
3. El uso de la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en el que el pez es un salmón.
4. Espinosad o a una sal fisiológicamente aceptable del mismo para uso en controlar piojos marinos en un pez criado por acuicultura.
- 10 5. El espinosad o una sal fisiológicamente aceptable del mismo para uso de acuerdo con la reivindicación 4 en el que el pez se selecciona entre: un bagre, una carpa, un salmón, una trucha, un jurel y un róbalo rayado.
6. El espinosad o una sal fisiológicamente aceptable del mismo para uso de acuerdo con la reivindicación 4 o la reivindicación 5, en el que el pez es un salmón.
7. Una formulación que comprende 1 a 2500 mg de espinosad o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, en asociación con, y por kg de, una composición de alimentos para peces.
- 15 8. La formulación de la reivindicación 7 que comprende 75 a 2250 mg/kg de espinosad.