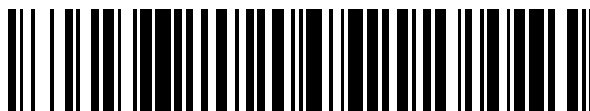


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 618 836**

51 Int. Cl.:

A23K 10/18 (2006.01)

A23K 50/60 (2006.01)

A23K 50/75 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.01.2008 PCT/EP2008/050480**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.07.2008 WO08087173**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.01.2008 E 08701542 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.01.2017 EP 2124604**

54 Título: **Método para producir pollos**

30 Prioridad:

17.01.2007 DK 200700070

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

22.06.2017

73 Titular/es:

**CHR. HANSEN A/S (100.0%)
Boge Allé 10-12
2970 HÖRSOLM, DK**

72 Inventor/es:

**KNAP, INGE;
LUND, BENTE;
CARVALHO, NELSON y
ALESSANDRI, ABILIO**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 618 836 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

Método para producir pollos

5 Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a un método para la producción de pollos de engorde que comprende la alimentación de los pollos con un pienso para pollos que comprende de 10^3 a 10^{11} CFU de bacterias de *Bacillus* por gramo de pienso, caracterizado por el hecho de que el pienso de pollo tiene un nivel energía metabolizable (ME) reducido de 85% a 98% de la ME en un pienso para pollos de uso estándar (total ~100% ME).

Descripción de los antecedentes

15 [0002] La producción de pollos industrial es un negocio enorme que alcanzó un volumen de alrededor de 6,7 toneladas en 2007. La alimentación óptima de los pollos es un factor importante en el proceso de la producción de pollos.

[0003] El libro de consulta "Commercial Poultry Nutrition" (3ª edición, 2005, ISBN 0-9695600-5-2) es un libro de texto estándar [1] acerca de aspectos nutricionales de la producción de pollos. A continuación se muestra un resumen considerado importante como antecedente de la presente invención.

20 [0004] Las dietas para pollos suelen denominarse "dietas de iniciación" y "dietas de crecimiento". Los ingredientes principales que aportan energía en las dietas son maíz, soja, aceite de soja y aminoácidos. El maíz es un aportador principal de energía metabolizable. El almidón del endospermo, que está principalmente compuesto por amilopectina, y el germen, que es principalmente aceite, constituyen el valor energético del maíz. Los valores energéticos típicos del maíz solo expresados en kcal/kg en 85% de sustancia seca varían de 3014 a 3313 (página 12 [1]). Los niveles de energía de las dietas de iniciación y de crecimiento están típicamente en el rango de 3000 a 3100 Kcal/kg. En muchos países, el trigo se usa también comúnmente en dietas para aves. Tales dietas tienen niveles de energía similares a los mencionados anteriormente. Como fuente de proteína, la soja se ha convertido en el estándar mundial con el que otras fuentes de proteína se comparan. Su perfil de aminoácido es excelente para la mayoría de los tipos de aves, y cuando se combina con maíz o sorgo, la metionina es normalmente el único factor en cantidades inadecuadas. Adicionalmente, las grasas y los aceites proporcionan una fuente de energía concentrada en las dietas e incluso cambios relativamente pequeños en los niveles pueden tener efectos significativos en la ME de la dieta. Por último, la dieta se suplementa con aminoácidos sintéticos tales como metionina y lisina. Otras fuentes importantes utilizadas son cebada, sorgo y otros cereales, y subproductos que aportan energía.

35 [0005] Con respecto al coste de la producción, la energía metabolizable (ME) es el nutriente más costoso en un ingrediente o dieta [5]. La determinación de la energía metabolizable se deriva por extrapolación a 100% de inclusión a partir de una ecuación de regresión con respecto a valores de ME de dietas de prueba a la proporción de ingrediente de prueba en tales dietas. El pienso se evalúa para energía bruta y nitrógeno, y los excrementos se secan y evalúan igualmente. Todos los datos analíticos se expresan normalmente en una base libre de humedad. La referencia [5] lo describe precisamente con ejemplos de tales cálculos para obtener el valor de ME final.

40 [0006] El nivel de energía metabolizable recomendado estándar de pienso para pollos está bien establecido en la técnica y los productores de pollos usan tal producto de pienso para asegurar un crecimiento óptimo de los pollos. A fecha de la presentación de la presente solicitud, un productor de pollos generalmente no utilizaría un pienso con menos del nivel de energía metabolizable recomendado estándar ya que tal pienso produciría crecimiento insuficiente de los pollos o los pollos comerían demasiado pienso.

45 [0007] A fecha de la presentación de la presente solicitud, el nivel de energía metabolizable usado estándar para piensos de pollos se muestra en la tabla 5.12, página 243 del libro de consulta [1]. Aquí, los datos más pertinentes de esta tabla 5.12 son:

	Iniciación			Crecimiento		
	Hubbard	Ross	Cobb	Hubbard	Ross	Cobb
ME (kcal/kg)	3000	3040	3023	3080	3140	3166

50 [0008] Hubbard, Ross y Cobb son los nombres de las crías de pollo usadas más frecuentemente para la producción de pollos de engorde.

55 [0009] GalliPro® (Chr. Hansen) es un producto de *Bacillus subtilis* comercial usado en la producción de pollos. Este producto es un probiótico y como se discute en el libro de texto de referencia [1] (página 91 - 92) tal producto se conoce por usarse como un probiótico en la producción de pollos. El libro de consulta [1] describe dos tipos de productos probióticos principales: cultivos microbianos viables y productos de fermentación microbiana. La mayor parte de la investigación se ha centrado en *Lactobacilli*, *Bacillus subtilis* y algunas especies de *Streptococcus*. Se ha sugerido que el uso de probióticos supone a) un cambio beneficioso en la flora intestinal con reducción de la población de *E. coli*; b)

producción de lactato con cambio posterior en el pH intestinal; c) producción de sustancias de bacteriocinas y d) reducción de la liberación de toxina.

[0010] La levadura se ha usado en piensos para animales y la industria alimentaria humana durante muchos años. Un artículo búlgaro [2] menciona el uso de *Saccharomyces cerevisiae* y la adición de esta levadura a la dieta. Añadir BioPro-I (que comprende levadura) al forraje combinado lleva a la mejora de la proteína de forraje, y añadir 0,1% de *S. cerevisiae* lleva a la utilización mejorada de la energía en el forraje en comparación con el grupo sin ningún aditivo probiótico. Los datos del artículo [2] muestran un aumento de peso corporal utilizando dietas óptimas estándar (de inicio y de finalización).

[0011] El libro de texto [1] y este artículo [2] no describen el uso de probióticos tales como especies de *Bacillus* para mejorar la utilización de la energía del pienso metabolizable.

[0012] La WO 2004/080200 describe un método de la mejora de la conversión de pienso de varias especies animales, por ejemplo pollos, incorporando concentraciones diferentes de dos suplementos probióticos diferentes. El foco está en el efecto de diferentes concentraciones del suplemento probiótico añadido al pienso en la ganancia de peso corporal. No hay cálculos sobre el índice de conversión alimenticia en los diferentes grupos.

[0013] La US 4.919.936 (Iwanami *et al.*) se refiere a piensos que contienen *Bacillus subtilis* C-3102.

[0014] La US 2003/0099624 se refiere a un proceso para mejorar la conversión de pienso y aumento de peso en aves que comprende la administración de *Bacillus laterosporus* a las aves.

[0015] La US 2002/0018770 se refiere a las administraciones posteriores de composiciones que comprenden lactobacilos y *Bacillus* para aves. Las proporciones de conversión de pienso no están consistentemente a favor de la administración de las composiciones de la invención.

[0016] En ninguna de estas solicitudes de patente y patentes hay ninguna sugerencia de alimentar a los pollo con un pienso para pollos con un nivel de energía de pienso metabolizable (ME) reducido.

[0017] Pelicano *et al.*, "Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality", Brazilian Journal of Poultry Science, 2003, describe pienso de inicio que tiene niveles de energía metabolizable (ME) de 2944 kcal/kg y pienso de crecimiento que tiene 3100 kcal/kg combinado con *Bacilli sp.* tal como *B. Subtilis* para alimentar pollos de engorde de la variedad Cobb. El artículo se refiere a rendimiento de carcasa y calidad de la carne, sin referencia alguna a ME o parámetros de rendimiento relacionados con ME tal como FCR.

[0018] La información comercial del material de marketing relacionada con el producto de Chr. Hansen, GalliPro®, se puede encontrar en un artículo de Nelson Carvalho [3] titulado "Prospects for probiotics in broilers" en Internet.

[0019] El artículo de Nelson Carvalho [3] indica que puede haber alguna mejora en el aumento de peso corporal del pollo usando GalliPro® en relación con un producto de pienso para pollos no especificado. En relación con el producto de pienso para pollos, el artículo menciona sencillamente "bajo condiciones de tipo comercial". El artículo de Nelson Carvalho no describe nada.

[0020] con respecto a una posible mejora relacionada con GalliPro® del uso de la energía de pienso metabolizable. El artículo describe las ventajas del uso de probióticos con el fin de reemplazar el uso de antibióticos, como también se describe en el libro de texto [2]. Objetivamente, la persona experta entendería que los productos pienso para pollos no especificados mencionados en el artículo de Nelson Carvalho [3] serían un producto de pienso con un nivel de energía metabolizable estándar como se ha mencionado anteriormente (es decir 100% ME)

[0021] Rostagno *et al.*, "Efficacy of a microbial feed additive - GalliPro® - in a corn/soybean meal based broiler diet", 2006, y Chr. Hansen A/S: GalliPro® también ambos se refieren a GalliPro® (DSM 17299) para mejorar la conversión de pienso como una alternativa a los promotores de crecimiento antibiótico.

[0022] Ninguno de los artículos anteriores proporciona ninguna sugerencia o indicio de que cuando se alimenta a los pollos con pienso que tiene menos del nivel de energía metabolizable recomendado estándar en combinación con *Bacillus*, se podría obtener una mejora de utilización de la energía del pienso metabolizable en el pienso en comparación con el uso de pienso para pollos estándar, e incluso menos una sugerencia para cambiar activamente el pienso para pollos estándar por un pienso para pollos de nivel de energía reducido y el uso de este pienso para pollos con nivel de energía reducido junto con *Bacillus*.

Resumen de la invención

[0023] El problema que hay que resolver mediante la presente invención se puede ver como la proporción de un nuevo método reductor de costes para la producción de pollos, que seguiría dado un crecimiento aceptable de los pollos.

[0024] La solución se basa en que los presentes inventores sorprendentemente han identificado que el uso de *Bacillus subtilis* (GalliPro®) en combinación con un producto de dieta de pienso para pollos que tiene menos del nivel de energía metabolizable recomendado estándar (por ejemplo 96% ME) se obtiene una mejora significativamente mayor, inducida por GalliPro®, del uso de la energía de pienso metabolizable en el pienso en comparación con el uso de dieta de pienso para pollos estándar (por ejemplo, definida como 100% de energía).

[0025] Esta identificación abre la posibilidad de combinar, por ejemplo, un producto de pienso para pollos con un nivel de energía del 96% ME con el uso de *Bacillus subtilis* (GalliPro®) en la producción de pollos. El productor de pollos no consideraría esta opción como se describe en este caso, dado que pensaría que usando, por ejemplo, un producto de pienso para pollos con un nivel de energía de 96% ME, no obtendría un crecimiento aceptable de los pollos. Véanse los ejemplos prácticos para más explicaciones (datos experimentales).

[0026] Sin estar limitado a la teoría, no hay razón para creer que el efecto positivo descrito en la presente sólo debería ser relevante para *Bacillus subtilis*. Una vez identificado como se muestra por primera vez en la presente, la persona experta esperaría que también funcionara para otras especies de *Bacillus* tal como por ejemplo *Bacillus licheniformis*.

[0027] Se cree que el uso combinado de pienso bajo en energía y *Bacillus* sería pertinente industrialmente para piensos que corresponden a 85% ME en comparación con el nivel de energía estándar definido como 100% ME. Así, una reducción de los "costes de ME del pienso" de un 15% se puede obtener en la producción de pollo utilizando las enseñanzas de la presente invención.

[0028] Por consiguiente, un primer aspecto de la invención se refiere a un método para la producción de pollos de engorde que comprende la alimentación de los pollos con un pienso para pollos que comprende de 103 a 1011 CFU de bacterias de *Bacillus* por gramo de pienso, caracterizado por el hecho de que el pienso para pollos tiene un nivel de energía de pienso metabolizable reducida (ME) de 85% a 98% ME de la ME de un pienso para pollos usado de manera estándar (*total* ~ 100% ME), donde el pienso para pollos usado de manera estándar (100%) tiene el siguiente nivel de ME:

- i): si el pollo es un pollo Hubbard, el nivel de ME del pienso de iniciación (100%) estándar es 3000 kcal/kg y el nivel de ME del pienso de crecimiento es 3080 kcal/kg;
 - ii): si el pollo es un pollo Ross el nivel de ME del pienso de iniciación estándar (100%) es 3040 kcal/kg y el nivel de ME del pienso de crecimiento es 3140 kcal/kg;
 - iii): si el pollo es un pollo Cobb el nivel de ME de pienso de iniciación estándar (100%) es 3023 kcal/kg y el nivel de ME de pienso de crecimiento es 3166 kcal/kg;
- y donde el nivel de energía metabolizable se determina según la evaluación de ME estándar (con y sin el marcador Cr₂O₃) como se describe en la sección "Evaluación del nivel de energía de pienso metabolizable (ME) estándar" en la presente.

[0029] En el número del nivel de ME absoluto, la energía del pienso para pollos se redujo de 85% a 98% según se utiliza en este caso tiene el nivel de ME absoluto siguiente:

- i): si el pollo es un pollo Hubbard el nivel de energía del pienso metabolizable del pienso de iniciación es de 2550 kcal/kg a 2940 kcal/kg y el nivel de energía de pienso metabolizable del pienso de crecimiento es de 2618 kcal/kg a 3018 kcal/kg;
- ii): si el pollo es un pollo Ross el nivel de energía de pienso metabolizable del pienso de iniciación es de 2584 kcal/kg a 2979 kcal/kg y el nivel de energía de pienso metabolizable del pienso de crecimiento es de 2669 kcal/kg a 3077 kcal/kg;
- iii): si el pollo es un pollo Cobb el nivel de energía de pienso metabolizable del pienso de iniciación es de 2570 kcal/kg a 2963 kcal/kg y el nivel de energía de pienso metabolizable del pienso de crecimiento es de 2691 kcal/kg a 3103 kcal/kg.

Definiciones

[0030] Antes de analizar las formas de realización detalladas de la invención, se aporta una definición de los términos específicos relacionados con los aspectos principales de la invención.

[0031] El término "bacteria de *Bacillus*" es un término bien conocido y bien definido para un grupo específico de bacterias. Para más detalles, por favor, véase, por ejemplo, el libro de consulta estándar Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [4]. Las bacterias de *Bacillus* pueden por ejemplo ser en forma de esporas bacterianas o células bacterianas vegetativas.

[0032] El término "dieta" debería entenderse según la técnica como la nutrición necesaria para producir pollos.

[0033] El término "energía" es la expresión general usada para describir la "energía bruta" de un alimento o producto/ingrediente de pienso. La "energía metabolizable" es la parte de la energía bruta que puede ser en realidad utilizada por el animal.

5 [0034] El término "pienso de crecimiento" usado junto con pienso para pollos es un término estándar conocido por la persona experta en relación con la producción de pollos. El pienso de crecimiento se usa después del pienso de iniciación durante la producción de pollos. Puede por ejemplo usarse después de 20 días de producción. El pienso de crecimiento se puede denominar a veces como "pienso de finalización". Ambos términos se pueden utilizar de forma intercambiable en la presente.

10 [0035] El término "energía metabolizable" se entiende como se refiere en la referencia [5] y se define como un valor calculado donde la energía bruta (kilocalorías/gramo) y el nitrógeno (gramos/gramo) se evalúa con y sin cromo como marcador.

15 [0036] El término "probiótico" es un término bien definido en la técnica y se refiere a un microorganismo vivo que confiere beneficios para la salud a un humano o animal cuando ha estado en contacto físico (por ejemplo cuando se ha comido, por ingestión) con el humano o animal.

[0037] El término "pienso de iniciación" usado junto con el pienso para pollos es un término conocido estándar para la persona experta en relación con la producción de pollos. El pienso de iniciación se usa al principio de una producción de pollos y hasta que se cambia generalmente a pienso de crecimiento.

20 [0038] A continuación se describen formas de realización de la presente invención sólo mediante ejemplos.

Descripción detallada de la invención

25 Ensayo estándar del nivel de energía de pienso metabolizable (ME)

[0039] En la presente, el nivel de ME del pienso para pollos debe ser determinado según el ensayo de ME estándar bien conocido como se discute por debajo.

30 [0040] El libro de texto estándar referencia [5] describe en la página 529 - 530 el método para determinar la ME estándar general que incluye las ecuaciones para determinar la ME pertinente que se muestran en la tabla 9.2 y se discuten más abajo.

35 [0041] El valor de ME del ingrediente de prueba específico se deriva por extrapolación al 100% de una ecuación de regresión relacionada con una dieta de prueba y valores de ME con la proporción de ingrediente de prueba en tales dietas. Durante el bioensayo, las dietas son por lo tanto entregadas durante un periodo de aclimatación de 3-4 días, seguido de un periodo de recolección de 2-4 días.

40 [0042] Los dos ensayos se usan - uno donde se añade el marcador Cr₂O₃ al pienso y uno sin él. El valor de ME del pienso medido final es la media de los dos métodos usados, es decir con o sin Cr₂O₃ añadido al pienso.

45 [0043] El pienso se evalúa para energía bruta y nitrógeno, y los excrementos se secan y también se evalúan. La energía bruta se determina por calorímetro de bomba adiabática (normas ASTM 1984. Subíndice). El nitrógeno se determina por el método de Kjeldahl (AOAC. 2000, 17.ed. no 984.13, Total nitrogen in Animal feed. Kjeldahl Method). El cromo se determina por espectrofotómetro de absorción atómica (Avanta sigma -modelo GBC) utilizando el método descrito por Williams, Williams, C.H., D.J.; ISMAA,O, "The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry" [7].

50 [0044] Ambas ecuaciones (un método que no utiliza cromo y el otro que utiliza cromo) se pueden generalizar de la siguiente manera:

Sin el uso de un marcador Cr₂O₃

[0045] ME de una dieta - ecuación general:

55 ME de una dieta (recolección de excrementos totales):

$$\text{ME kcal/g} = \text{Dieta ingesta pienso (g) x dieta GE (kcal/g)} - [\text{Emisión excrementos (g) x excrementos GE (kcal/g)}] / \text{Ingesta pienso}$$

60 Con el uso de un marcador Cr₂O₃

[0046] En caso de marcador, no hay necesidad de medir la ingesta de alimento o la emisión de excrementos.

ME de una dieta (marcador de Cr):

65
$$\text{Factor de indigestibilidad (IF)} = \text{Dieta Cr (g/g)} / \text{Excrementos Cr (g/g)}$$

ME de una dieta (marcador Cr): Dieta GE (kcal/g) – [Excrementos GE (kcal/g) x IF] = ME kcal/g

[0047] La precisión del método para el cálculo de la ME descrito anteriormente es significativamente inferior al 2% y generalmente alrededor del 1%.

[0048] Por consiguiente, la persona experta puede mediante este método claramente y precisamente identificar si está o no utilizando un nivel de ME estándar (100%) en el pienso para pollos o si está utilizando, por ejemplo, un nivel reducido al 98% como se describe en este caso. La referencia [8] describe las metodologías mencionadas anteriormente y sus exactitudes. Este estudio especialmente concluyó sobre la medición altamente precisa de energía metabolizada por el método descrito en esta patente.

Pienso para pollos

[0049] Las dietas de piensos para pollos consisten generalmente en proteínas crudas, grasas, azúcares, aminoácidos, minerales, almidón y vitaminas. Las composiciones típicas de dietas se muestran en la tabla 1 bajo ejemplos de trabajo. Hay muchos ingredientes disponibles y el capítulo 2 del libro de consulta [1] describe las ventajas y desventajas de los ingredientes comunes en tales dietas en detalle.

[0050] Los ingredientes principales que aportan energía en las dietas son maíz, trigo, soja, aceite de soja y aminoácidos. El maíz puede ser un aportador principal de energía metabolizable.

[0051] En una forma de realización preferida, el pienso para pollos tiene un nivel de energía de pienso metabolizable reducida (ME) de 88% a 97% ME de la ME del pienso para pollos usado de forma estándar (*total* ~ 100% ME) tal como se ha definido anteriormente en el primer aspecto de la invención, más preferiblemente el pienso para pollos tiene un nivel de energía de pienso metabolizable reducida (ME) de 90% a 96% ME de la ME del pienso para pollos usado de forma estándar (*total* ~ 100% ME) y de la forma más preferible el pienso para pollos tiene un nivel de energía de pienso metabolizable reducida (ME) de 92% a 96% ME de la ME del pienso para pollos usada de forma estándar (*total* ~ 100% ME) tal como se ha definido anteriormente en el primer aspecto de la invención.

[0052] Como se ha descrito anteriormente, una ventaja de la presente invención es que el productor de pollos puede usar un pienso con energía reducida y seguir obteniendo un buen crecimiento de los pollos.

[0053] Por consiguiente, la forma de realización preferida es un método como se ha descrito en este caso, donde un productor de pollos usa un pienso para pollos estándar (100% ME) y luego cambia activamente el pienso para pollos a un pienso para pollos con nivel de energía reducido tal y como se define en el primer aspecto, y luego usa este pienso para pollos de nivel de energía reducido junto con bacterias de *Bacillus*.

Pollos

[0054] Como se ha mencionado anteriormente, Hubbard, Ross y Cobb son los tipos de cría de pollo más frecuentemente usados para la producción de pollos de engorde. La persona experta puede identificar de forma rutinaria si un pollo es o no un pollo Hubbard, Ross y/o Cobb.

[0055] En los ejemplos prácticos de la presente los efectos positivos se han demostrado en los pollos de tipo Ross. Un pollo Ross es una forma de realización preferida en el presente contexto.

Bacterias de *Bacillus* probióticas

[0056] Preferiblemente, las bacterias de *Bacillus* probióticas son unas bacterias seleccionadas de al menos unas bacterias del grupo que consiste en *B. Subtilis*, *B. Licheniformis*, *B. Coagulans* y *B. Cereus*. Combinaciones de diferentes especies de *Bacillus* también se pueden usar.

[0057] De la forma más preferible las bacterias de *Bacillus* son un *B. subtilis*.

[0058] El producto GalliPro® (Chr. Hansen) comprende el *B. subtilis* DSM17299. Esta cepa de *B. subtilis* es una forma de realización preferida en la presente.

[0059] El producto de pienso para pollos también puede comprender otros microorganismos sin *Bacillus*.

[0060] GalliPro® se incluye normalmente en el pienso para pollos en una cantidad de aproximadamente $3,2 \times 10^6$ CFU de bacterias probióticas de *Bacillus* por gramo de pienso. (CFU/g de pienso).

[0061] Por consiguiente, en el presente contexto el pienso para pollos preferiblemente comprende de 10^4 a 10^{10} CFU de bacterias probióticas de *Bacillus* por gramo de pienso, más preferiblemente de 10^5 a 10^8 CFU de bacterias probióticas de *Bacillus* por gramo de pienso y de la forma más preferible de 10^5 a 10^7 CFU de bacterias probióticas de *Bacillus* por gramo de pienso, incluso de la forma más preferida a 10^6 a 10^7 .

[0062] Como se ha mencionado anteriormente, las bacterias de *Bacillus* probióticas pueden por ejemplo ser en forma de esporas bacterianas o células bacterianas vegetativas. Las bacterias de *Bacillus* probióticas preferiblemente están en forma de esporas bacterianas.

5

Ejemplos

Ejemplo 1 - prueba de rendimiento con pollos de engorde

10 Material y métodos

[0063] Un total de 800 pollos de engorde machos de un día de edad de una cepa comercial (Ross 308) se usaron en corrales de suelo de 1,0 m x 1,5 m de tamaño, dando como resultado una densidad desde el día 20 al día 41 de 13,3 ave/m² y aproximadamente 33,3 kg/m² en el día 41 (2,5 kg/ave). El periodo experimental duró 41 días, consistiendo en la fase de iniciación, desde el día 1 hasta el día 20, y la fase de crecimiento, desde el día 20 hasta el día 41.

15

[0064] Los pájaros se distribuyeron de forma aleatoria en un diseño factorial 2 x 2 (dieta x probiótico) con 4 tratamientos, 8 réplicas y 25 aves por unidad experimental (corral) en la fase de iniciación y 20 aves en la fase de crecimiento/finalización. Los tratamientos experimentales fueron: la adición de un probiótico (GalliPro a un índice de inclusión de 500 g/tonelada) para dietas de 100% ME (C), iniciación y crecimiento - y otro con un 4% de reducción en el nivel nutricional de energía (NC). Dietas similares sin adición de GalliPro se incluyeron como tratamientos de control. Todas las dietas experimentales incluyendo premezclas de vitaminas y minerales no contenían ninguna sustancia promotora del crecimiento o enzimas.

20

25 Tratamientos experimentales - dietas de iniciación y crecimiento:

[0065]

Tratamiento	Dietas adecuadas= ME100	Tratamiento	Dietas reducidas en 4% ME
1	Control (C)	3	Control (NC)
2	C + GalliPro	4	NC + GalliPro

30

[0066] Las dietas del tratamiento 1 y 2 se formularon para contener maíz, y harina de soja con niveles de nutrientes adecuados, siguiendo las recomendaciones de las tablas brasileñas [6]. Las dietas de los tratamientos 3 y 4 fueron calculadas con un 4% de reducción en la energía metabolizable solo. Las dietas basales fueron analizadas para sustancia seca, energía, proteína y aminoácidos.

35

[0067] La tabla 1 a continuación muestra la composición de un ejemplo típico de una dieta con 100% ME con ingredientes nombrados como se conoce en la técnica, y una dieta de pienso reducida analizada para ser una dieta de 96% ME.

Tabla 1. Composición de dietas Experimentales Basales

40

	Iniciación		Crecimiento / Terminación	
	01 a 20 días de edad		20 a 41 días de edad	
	Trat 1 (100%)	Trat 3 (96%)	Trat 1 (100%)	Trat 3 (96%)
Maíz	55,174	58,008	60,556	63,533
Harina de soja	37,320	36,808	31,499	30,961
Aceite de soja	3,435	1,109	4,231	1,788
Fosfato dicálcico	1,852	1,845	1,615	1,607
Piedra caliza	0,907	0,912	0,832	0,838
Sal	0,502	0,501	0,465	0,464
DL-Metionina	0,239	0,235	0,210	0,206
L-lisina	0,130	0,140	0,152	0,162
L-Treonina	0,026	0,027	0,025	0,026

ES 2 618 836 T3

Premezcla de vitamina ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Premezcla de mineral ²	0,050	0,050	0,050	0,050
Colina Cloruro	0,100	0,100	0,100	0,100
Anticoc, (Salinomicina 12%)	0,055	0,055	0,055	0,055
Antioxidante (BHT)	0,010	0,010	0,010	0,010
Almidón ³	0,100	0,100	0,100	0,100
Total	100,000	100,000	100,000	100,000
Energía Metab. kcal/kg	3030	2910	3150	3024
Proteína cruda, %	21,74	21,75	19,55	19,56
Calcio, %	0,908	0,908	0,809	0,809
Provecho de fósforo, %	0,454	0,454	0,404	0,404
Dig. arginina, %	1,393	1,387	1,226	1,220
Glicina+Serina total, %	1,975	1,975	1,769	1,768
Dig. isoleucina, %	0,860	0,858	0,763	0,760
Dig. lisina, %	1,170	1,170	1,050	1,050
Dig. Met. + Cist., %	0,831	0,831	0,756	0,756
Dig. metionina, %	0,539	0,537	0,486	0,484
Dig. treonina, %	0,761	0,761	0,683	0,683
Dig, triptófano, %	0,242	0,241	0,213	0,212
Dig. valina, %	0,914	0,914	0,820	0,820
¹ Premezcla de mineral – Cantidad por kg de dieta: Mn, 65 mg; Fe, 50. 0 mg; Zn, 60. 0 mg; Cu, 10. 0 mg; I, 0.8 mg; Se, 0.3 mg.				
² Premezcla de vitamina - cantidad por kg de dieta: vitamina A, 10.000 UI; vitamina D3, 2.000 UI; vitamina E, 35 UI; vitamina K3, 1,7 mg; vitamina B1, 1,5 mg; vitamina B6, 2,4 mg; vitamina B12, 12 mcg; Ácido pantoténico, 12,0 mg; biotina, 0,07 mg; Ácido fólico, 0,7 g; Ácido nicotínico, 35 g.				
³ GalliPro® ha sustituido la misma cantidad de almidón en las dietas experimentales				

[0068] Los valores ME (kcal/kg) fueron valores calculados evaluados por los dos métodos (con o sin óxido de cromo) como se ha descrito anteriormente. El coeficiente de variación fue estimado en 1,69%.

5 [0069] Las aves y el pienso se pesaron, en una base de corral, los días 20 y 41 de edad para determinar el rendimiento (aumento de peso, consumo de pienso y conversión de pienso (es decir, la proporción entre el pienso consumido y el peso adquirido), mortalidad, pérdidas e índice de producción (aumento de peso diario, kg) x (100 - mortalidad)/(conversión de pienso) x 10. Se proporcionó pienso y agua ad libitum durante toda la prueba.

10 Resultados experimentales - fase de iniciación.

[0070] Los parámetros de rendimiento de las aves en el periodo desde el día 1 hasta el día 20 se muestran en las tablas 2 y 3.

15 Tabla 2. Ingesta de pienso y peso corporal (g/ave) de pollos de engorde a partir de 1 a 20 días de edad

Tratamientos	Ingesta de pienso		Peso corporal	
	ME 100	ME 96	ME 100	ME 96
Control	1022,3	1039,1	765,3	734,7
C + GalliPro	1004,9	1039,3	765,8	753,2
Diferencia	-17,4	+0,2	+0,5	+18,5

Tratamientos	Ingesta de pienso		Peso corporal	
	ME 100	ME 96	ME 100	ME 96
Relativo %	-1,7%	0%	0%	+2,5%

[0071] El uso de GalliPro® en una dieta de maíz/soja no mejoró el peso corporal en el periodo desde el día 1 hasta el día 20, pero redujo el consumo de pienso. El uso de GalliPro® en una dieta reducida de energía metabolizada mejoró el peso corporal de las aves en 2,5%.

5

Tabla 3. Ganancia de peso (g/ave) y Conversión de pienso (g/g) de pollos de engorde de 1 día a 20 días de edad

Tratamientos	Ganancia de peso		Conversión de pienso	
	ME 100	ME 96	ME 100	ME 96
Control	723,1	692,5	1,414	1,503
C + GalliPro	723,5	710,9	1,380	1,451
Diferencia	+0,4	18,4	0,034	0,052
Relativo %	0%	2,7%	-2,4%	-3,5%

10 [0072] El uso de GalliPro® en una dieta para pollos de engorde con nutrientes adecuados de maíz/soja mejoró la conversión de pienso en 2,4%. GalliPro® en una dieta reducida en energía metabolizable (ME96) mejoró la conversión de pienso incluso más como muestra la tabla 3 en 3,5%.

Resultados Experimentales - fase de iniciación y de crecimiento.

15

[0073] Los parámetros de rendimiento de las aves en el periodo desde el día 1 al día 41 se muestran en las tablas 4 a 6.

Tabla 4. Consumo de pienso y peso corporal (g/ave) de pollos de engorde de 1 a 41 días de edad.

Tratamientos	Ingesta de pienso		Peso corporal	
	ME 100	ME 96	ME 100	ME 96
Control	4552,7	4626,5	2658,6	2614,2
C + GalliPro	4505,2	4627,8	2682,7	2660,6
Diferencia	-47,5	+1,3	+24,1	+46,4
Relativo %	-1%	0%	+0,9%	+1,8%

20

[0074] El uso de GalliPro® en una dieta para pollos de engorde con nutrientes adecuados de maíz/soja mejoró el peso corporal en el periodo desde el día 1 hasta el día 41 en 0,9%. El uso de GalliPro en una dieta reducida en energía metabolizada mejoró el peso corporal de las aves otro en 1,8%.

25 Tabla 5. Aumento de peso (g/ave) y conversión de pienso (g/g) y conversión de pienso (g/g) de pollos de engorde de 1 a 41 días de edad.

Tratamientos	Ganancia de peso		Conversión de pienso	
	ME 100	ME 96	ME 100	ME 96
Control	2616,4	2572,0	1,740	1,800
C + GalliPro	2640,5	2618,4	1,707	1,768
Diferencia	24,1	46,4	-0,03	-0,03
Relativo %	0,9%	1,8%	-1,9%	-1,8%

30

Tabla 6. Índice de eficiencia productiva (PEI) de pollos de engorde de 1 a 41 días de edad.

Tratamientos	PEI	
	ME 100	ME 96
Control	339,2	331,0
C + GalliPro	337,7	336,4
Diferencia	-1,5	+5,4
Relativo %	-0,4%	+1,6%

[0075] El uso de GalliPro® en una dieta reducida en energía metabolizada mejoró el índice de eficiencia productiva (PEI) de los pollos de engorde de 1 a 41 días de edad en 1,6% donde el efecto de GalliPro® en una dieta para pollos de engorde con nutrientes adecuados de maíz/soja influye en el PEI con -0,4% en comparación con la dieta de control sin GalliPro®.

Ejemplo 2 - energía metabolizable

[0076] Un total de 128 pollos de engorde machos (26 días de edad) de una cepa comercial (Ross 308) se transfirieron a jaulas metabólicas. El periodo experimental duró desde el día 26 hasta el día 37. Las aves fueron alimentadas con dietas de iniciación experimentales (tratamientos 1 a 4) de 1 a 20 días de edad y dietas de crecimiento de 20 a 37 días de edad (véase tabla 7).

[0077] Las aves se distribuyeron de forma aleatoria en un diseño factorial 2 x 2 (dieta x probiótico) con 4 tratamientos, 8 réplicas y 4 aves por unidad experimental (jaula). Los tratamientos experimentales fueron: la adición de un probiótico (GalliPro®) a dos dietas de crecimiento (una adecuada nutricionalmente y una con un 4% de reducción de los niveles de energía).

[0078] Las dietas del tratamiento 1 y 2 fueron formuladas para contener maíz y harina de soja con niveles de nutrientes adecuados, siguiendo las recomendaciones de las tablas brasileñas [6]. Las dietas del tratamiento 3 y 4 fueron formuladas con un 4% de reducción en la energía metabolizable.

[0079] Óxido crómico (Cr₂O₃) se añadió a las dietas experimentales en el nivel de 0,50%, como marcador indigerible. Se proporcionó pienso y agua ad libitum durante toda la prueba.

[0080] Los tratamientos experimentales:

Tratamiento	Dietas adecuadas	Tratamiento	Dietas reducidas en 4% de ME
1	Control (C)	3	Control (NC)
2	C + GalliPro®	4	NC + GalliPro®

[0081] La fase desde el día 26 hasta el día 31 (5 días) se consideró como una adaptación a las dietas y las jaulas. Luego desde el día 31 hasta el día 36 (5 días), el consumo de pienso y la producción de excrementos total por corral se midió para determinar los valores de energía metabolizable (ME aparente, nitrógeno aparente y ME corregida) de las dietas de crecimiento experimentales.

Tabla 7. Composición de las Dietas Experimentales Basales

	Iniciación		Crecimiento / Terminación	
	01 a 20 días de edad		20 a 41 días de edad	
	Trat 1 (100%)	Trat 3 (96%)	Trat 1 (100%)	Trat 3 (96%)
Maíz	55,174	58,008	60,556	63,533
Harina de soja	37,320	36,808	31,499	30,961
Aceite de soja	3,435	1,109	4,231	1,788
Fosfato dicálcico	1,852	1,845	1,615	1,607
Piedra caliza	0,907	0,912	0,832	0,838

ES 2 618 836 T3

Sal	0,502	0,501	0,465	0,464
DL-Metionina	0,239	0,235	0,210	0,206
L-lisina	0,130	0,140	0,152	0,162
L-Treonina	0,026	0,027	0,025	0,026
Premezcla de vitamina ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Premezcla de mineral ²	0,050	0,050	0,050	0,050
Colina Cloruro	0,100	0,100	0,100	0,100
Anticoc, (Salinomicina 12%)	0,055	0,055	0,055	0,055
Antioxidante (BHT)	0,010	0,010	0,010	0,010
Almidón ³	0,100	0,100	0,100	0,100
Total	100,000	100,000	100,000	100,000
Energía Metab, kcal/kg	3030	2910	3150	3024
Proteína cruda, %	21,74	21,75	19,55	19,56
Calcio, %	0,908	0,908	0,809	0,809
Provecho de fósforo, %	0,454	0,454	0,404	0,404
Dig. arginina, %	1,393	1,387	1,226	1,220
Glicina+Serina total, %	1,975	1,975	1,769	1,768
Dig. isoleucina, %	0,860	0,858	0,763	0,760
Dig. lisina, %	1,170	1,170	1,050	1,050
Dig. Met, + Cist., %	0,831	0,831	0,756	0,756
Dig. metionina, %	0,539	0,537	0,486	0,484
Dig. treonina, %	0,761	0,761	0,683	0,683
Dig. triptófano, %	0,242	0,241	0,213	0,212
Dig. valina, %	0,914	0,914	0,820	0,820
¹ Premezcla de mineral – Cantidad por kg de dieta: Mn, 65 mg; Fe, 50. 0 mg; Zn, 60. 0 mg; Cu, 10. 0 mg; I, 0.8 mg; Se, 0.3 mg.				
² Premezcla de vitamina - cantidad por kg de dieta: vitamina A, 10.000 UI; vitamina D3, 2.000 UI; vitamina E, 35 UI; vitamina K3, 1,7 mg; vitamina B1, 1,5 mg; vitamina B6, 2,4 mg; vitamina B12, 12 mcg; Ácido pantoténico, 12,0 mg; biotina, 0,07 mg; Ácido fólico, 0,7 g; Ácido nicotínico, 35 g.				
³ GalliPro® ha sustituido la misma cantidad de almidón en las dietas experimentales				

[0082] Los valores de ME (kcal/kg) fueron valores calculados evaluados por los dos métodos (con o sin óxido de cromo) como se ha descrito anteriormente. El coeficiente de variación fue estimado en 1,69%.

5 Resultados Experimentales

[0083] La energía metabolizable aparente y el nitrógeno aparente corrigieron los valores de energía metabolizable de las dietas determinadas con pollos de engorde de 31 a 36 días de edad se muestran en la tabla 8.

10 Tabla 8. Valores de Energía Metabolizable. (ME) (kcal / kg sustancia seca) de las dietas de crecimiento determinadas con pollos de engorde.

Tratamientos	ME		ME corregido de N	
	ME 100	ME 96	ME 100	ME 96
Control	3582	3444	3430	3291

ES 2 618 836 T3

Tratamientos	ME		ME corregido de N	
	ME 100	ME 96	ME 100	ME 96
C + GalliPro	3651	3555	3502	3408
Diferencia	+69	+111	+72	+117
Relativo %	1,9%	3,2%	2,0%	3,6%

[0084] El uso de GalliPro® en una dieta de engorde con nutrientes de maíz/soja adecuada mejora la energía metabolizable (corregida de N) de la dieta en 1,9 %. El uso de GalliPro® en una dieta reducida en energía metabolizable aumenta la energía metabolizada (corregida de N) incluso más obteniendo mejoras de 3,6%.

5

Referencias

[0085]

- 10 1. Commercial Poultry nutrition, 3rd Edition, University books, Steven Leeson, John D. Summers, P.O. Box 1326 Guelph, Ontario, Canada N1H 6N8.
2. M. Ignatova, H. Stanchev, International centre of Nauki, Shivotnovbni Nauki 4 - 5/2002. ; pages 89-92.
- 15 3. Prospects for antibiotics in broilers, www.stocarstvo.com, Nelson Carvalho, DVM, Steffen Hansen, MCS. Feed international, vol. 26, # 10, November/December 2005. Watt publishing Co.; USA www.feedindustrynetwork.com.
4. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 2; 1986 page nos. 1104-1139.
- 20 5. Nutrition of the chicken, 4th edition, 2001 by Steven Leeson and John D. Summers, University books P.O. box 1326, Guelg, Ontario, Canada N1H 6N8.
- 25 6. Rostagno, H., L. Albino, J. Donzele, P. Gomes, R. Oliveira, D. Lopes, A. Ferreira & S. Barreto (2005) "Brazilian tables for poultry and swine. Composition of feedstuffs and nutritional requirements". 2nd edition, Univ. Federal de Viçosa, Viçosa MG, Brazil, 181 p.
7. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. J. Agri.Sci., vol 59, page 381-385, 1962.
- 30 8. Comparison of metabolizable energy and productive energy determinations with growing chicks. F.W.Hill and D.L. Andersen. Hill and Anderson (1958). Comparison of metabolisable energy and productive energy determination with growing chicks. Journal of nutrition, 64: 587-603.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Método para la producción de pollos de engorde **caracterizado por el hecho de que** un productor de pollos usa un pienso para pollos estándar (100% ME) y luego cambia activamente el pienso para pollos a un pienso para pollos con nivel de energía reducido y usa este pienso para pollos con nivel de energía reducido junto con de 10^3 a 10^{11} CFU de bacterias de *Bacillus* por gramo de pienso, donde el pienso para pollos con nivel de energía reducido tiene un nivel de energía de pienso metabolizable (ME) reducido de 85% a 98% ME de la ME de un pienso para pollos usado de forma estándar (*total* ~ 100% ME), donde el pienso para pollos usado estándar (100%) tiene el siguiente nivel de ME:
- 10 i): si el pollo es un pollo Hubbard, el nivel de ME del pienso de iniciación estándar (100%) es 3000 kcal/kg y el nivel de ME de pienso de crecimiento es 3080 kcal/kg;
- ii): si el pollo es un pollo Ross, el nivel de ME de pienso de iniciación estándar (100%) es 3040 kcal/kg y el nivel de ME de pienso de crecimiento es 3140 kcal/kg;
- 15 iii): si el pollo es un pollo Cobb, el nivel de ME de pienso de iniciación estándar (100%) es 3023 kcal/kg y el nivel de ME de pienso de crecimiento es 3166 kcal/kg;
- y donde el nivel de energía metabolizable se determina según el ensayo de ME estándar (con y sin el marcador Cr_2O_3) como se describe en la sección " Ensayo estándar del nivel de energía de pienso metabolizable (ME)" en la presente.
- 20 2. Método según la reivindicación 1, donde el pienso para pollos es un pienso para pollos que comprende maíz, trigo, soja, y/o aceite de soja.
3. Método según las reivindicaciones 1 o 2, donde el pienso para pollos tiene un nivel de energía de pienso metabolizable (ME) reducido de 92% a 96% ME de la ME del pienso para pollos estándar (*total* ~ 100% ME) tal y como se define en la reivindicación 1.
- 25 4. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el pollo es un pollo Ross.
5. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la bacteria de *Bacillus* es un *B. subtilis*.
- 30 6. Método según la reivindicación 5, donde el *B. Subtilis* es el *B. subtilis* DSM17299.
7. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el pienso para pollos comprende de 10^5 a 10^7 CFU de bacterias de *Bacillus* por gramo de pienso.