



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0520481-0 A2**

(22) Data de Depósito: 10/08/2005
(43) Data da Publicação: 06/07/2010
(RPI 2061)



(51) Int.Cl.:

A61K 45/06

A61K 31/715

(54) Título: **COMPOSIÇÃO DE B-1, 3 (4) - ENDOGLUCANOHIDROLASE, B-1, 3 (4) GLUCANAS, TERRA DIATOMÁCEA, ARGILA MINERAL E GLUCOMANANAS E MÉTODO DE USO PARA AUMENTAR A FUNÇÃO IMUNOLÓGICA**

(73) Titular(es): NEIL ELLIOTT FORSBERG, STEVEN BRUCE PUNTENNEY

(72) Inventor(es): NEIL ELLIOTT FORSBERG, STEVEN BRUCE PUNTENNEY

(74) Procurador(es): M C. Araújo Consultoria em Prop Indl Ltda

(86) Pedido Internacional: PCT US2005028529 de 10/08/2005

(87) Publicação Internacional: WO 2007/021262 de 22/02/2007

(57) Resumo: Descreve-se um método para o aumento da função imunológica. A invenção compreende uma combinação de β -3-1,3(4)-endo-glucano-hidrolase, β -3-1 ,3(4) glucano, terra de diatomáceas, argila mineral e glucomanano, que é oferecida ou consumida por espécies mamíferas ou aviárias em quantidades suficientes para aumentar a função imunológica. A invenção descrita pode ser misturada com rações e alimentos, incorporada em rações ou alimentos em grãos ou administrada às espécies mamíferas e aviárias por via oral.

**COMPOSIÇÃO DE β -1, 3 (4)-ENDOGLUCANOHI-DROLASE,
 β -1,3(4)GLUCANAS, TERRA DIATOMÁCEA, ARGILA MINERAL E
 GLUCOMANANAS E MÉTODO DE USO PARA AUMENTAR A FUNÇÃO
 IMUNOLÓGICA**

5

Campo da Invenção

Esta invenção refere-se a métodos e composições para o aumento da função imunológica em mamíferos e espécies aviárias.

Referências citadas [Referidas por]:

Patentes norte-americanas

10	4,857,512	15 de agosto de 1989	Wagner et al.	514/54
	5,183,667	2 de fevereiro de 1993	Koch, H.	424/474
	5,519,009	1 de outubro de 1993	Donzis, B.	514/54
	6,395,311	28 de maio de 2002	Jia, Q.	424/744
	6,541,678	1 de abril de 2003	Klein, B.	602/41
15	6,573,245	3 de junho de 2003	Marciani, J.	514/25
	6,660,722	9 de dezembro de 2003	Yvin, J.C.	514/54

Outras referências:

- Adib Conquy, M., C. Fitting. Immunological status of cardiac arrest and resuscitated patients.
- 20 <http://www.pasteur.fr/recherche/RAR/RAR2002/Cytoinf-en.html>, 2002.
- AOAC. 2002. Official Methods of Analysis. 17th Edition. AOAC International Press.
- Burton, J.L., R.J. Erskine. Immunity and mastitis. Some new ideas for an old disease. Vet. Clin. Food Anim. 19:1-45, 2003.
- 25 - Invivogen. <http://www.invivogen.com/genedescription/TLRO1.htm>. 2004.
- Travis, J. Biologists reveal the proteins that first see dangerous microbes. Week of Sept. 8, 2001 Vol. 160, Nº. 10.
- Werling D., J.C. Hope, C.J. Howard, T. W. Jungi. Differential production of cytokines, reactive oxygen and nitrogen by bovine macrophages and
- 30 dendritic cells stimulated with Toll-like receptor agonists. Immunology 111:41-52, 2004.
- White S.N., K.H. Taylor, CA. Abbey, CA. Gill, J.E.Womack. Haplotype variation in bovine Toll-like receptor 4 and computational prediction of a positively selected ligand- binding domain. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.

100:10364-10369, 2003

- Weber, P.S.D., S.A. Madsen, G. W Smith, JJ. Ireland, JX. Burton.
Pre-translational regulation of neutrophil L-selectin in glucocorticoid-challenged cattle. Vet. Immunol. Immunopath. 83:213-240, 2001.

5

Fundamentos da invenção

O sistema imunológico consiste de duas características gerais. São elas: 1) o sistema imunológico inato e 2) o sistema imunológico adaptativo (mediado pelos anticorpos). O sistema imunológico inato representa a primeira linha de defesa contra um agente patogênico invasor (seja bacteriano ou fúngico) e propicia ao sistema imunológico adaptativo tempo suficiente (3-5 dias) para que ele produza anticorpos que serão usados para "combater" os agentes patogênicos. Embora os sistemas inato e adaptativo sejam descritos freqüentemente de forma separada, eles atuam em série; lutando para seqüestrar e neutralizar uma empreitada invasora.

15

O sistema imunológico inato.

O sistema imunológico inato consiste de diversos componentes interessantes. Entre eles estão:

1. As barreiras físico-químicas contra os agentes patogênicos propiciadas pelo epitélio, suco gástrico e enzimas digestivas.
- 20 2. As células que engolfam e digerem os agentes invasores (por exemplo, os neutrófilos).
3. Os receptores presentes na superfície destas células, que reconhecem e se ligam a estes agentes patogênicos.
4. Moléculas sinalizantes (por exemplo, quimosinas, citosinas), que indicam
- 25 os locais de infecção e regulam a expressão de genes imunológicos.

Neutrófilos.

Os neutrófilos estão entre as células mais importantes do sistema imunológico inato. Elas são as primeiras células a chegarem a um local de infecção. Nos mamíferos, existem bilhões de neutrófilos, das quais cerca da metade circulam livremente no sangue (Burton e Erskine, 2003). As restantes ficam reservadas na medula óssea, onde são geradas. Os neutrófilos expressam uma proteína de ligação extra-molecular em suas membranas nomeada "L-selectina" (também chamada CD62L). O papel da L-selectina é o de interagir fracamente com a parede da célula endotelial permitindo assim que o neutrófilo

30

"role" ao longo da parede de um vaso sangüíneo e "monitore" a parede da célula quanto à presença de sinais que indiquem uma infecção local. (Figura 1). A presença dos agentes patogênicos nos tecidos periféricos causa a liberação de substâncias químicas locais, que, então, sinalizam a um neutrófilo rolante sobre uma infecção. Em resposta a estes sinais, a L-selectina é liberada da superfície do neutrófilo (veja Figura 1) e outras moléculas mais adesivas são expressas em sua superfície. Estas moléculas essencialmente "grudam" o neutrófilo dentro do vaso sangüíneo adjacente ao local da infecção. O neutrófilo ativado então migra através da célula endotelial em direção ao agente patogênico invasor. A Interleucina-1 β é produzida pelo neutrófilo como uma citosina pró-inflamatória. Isto auxilia na mediação da inflamação e facilita a contenção dos agentes patogênicos invasores. Durante a migração do neutrófilo, os sinais químicos originários do local de infecção (tais como TNF- α e interferon- γ) ativam o neutrófilo a ser tornar uma "célula exterminadora" madura. O neutrófilo maduro migra em direção ao local de infecção, onde ela interage com os padrões microbianos associados a agentes patogênicos (sigla em inglês, PAMPs) na superfície dos agentes patogênicos por meio de diversos tipos de receptores. Estes receptores são expressos na superfície do neutrófilo e incluem os seguintes tipos bem identificados (Figura 2):

- a - CD18 e CD14
- b - receptores tipo *Toll* (TLRs)
- c - C3b e C3bi (fatores complementares)
- d - Fc

Ligação de neutrófilos a agentes patogênicos por meio de receptores.

Ambos receptores CD14 e CD18 se ligam a lipopolissacarídeos (LPS), uma estrutura de polissacarídeo comum associada com as membranas de bactérias gram-negativas. Além disto, os neutrófilos expressam os receptores tipo *Toll* (TLRs) que reconhecem e se ligam às estruturas adicionais associadas com os agentes patogênicos. Até agora, 10 receptores tipo *Toll* diferentes foram identificados em mamíferos (Figura 2 e Tabela 1). Os TLRs exercem um papel crítico na imunidade inata recente a agentes patogênicos invasores por microorganismos sensíveis. Estes receptores evolucionários conservados reconhecem motivos estruturais altamente conservados somente expressos pelos agentes patogênicos microbianos chamados padrões microbianos associados a

agentes patogênicos (PAMPs: Invivogen, 2004). A estimulação de TLRs por PAMPs inicia uma cascata de sinais que envolvem diversas proteínas, como por exemplo MyD88 e IRAK (Figura 2). Esta cascata de sinais leva à ativação do fator de transcrição NF- κ B que induz à secreção de citosinas, que orienta a resposta imunológica adaptativa (por exemplo, mediada por anticorpos). Os TLRs são expressos predominantemente em tecidos envolvidos na função imunológica como, por exemplo, do baço e por leucócitos sanguíneos periféricos, assim como aqueles expostos ao ambiente externo, como do pulmão e do trato intestinal. 10 TLRs humanos e 9 de ratos foram caracterizados, 7 dos quais tiveram seus ligantes identificados. Por exemplo, o TLR2 é essencial para o reconhecimento de uma variedade de PAMPs, incluindo as lipoproteínas bacterianas, peptidoglicano, e ácidos lipotenóicos. O TLR3 está implicado com RNA em fita dupla derivado de vírus. O TLR4 é ativado predominantemente pelo lipopolissacarídeo. O TLR5 detecta flagelina bacteriana e o TLR9 é solicitado para resposta a DNA CpG não-metilado (Tabela 1). Recentemente, constatou-se que o TLR7 e TLR8 reconhecem as moléculas antivirais sintéticas. Estes receptores são elementos essenciais na defesa do hospedeiro contra agentes patogênicos por meio da ativação do sistema de imunidade inata (Invivogen, 2004).

TLRs Bovinos. Relativamente poucos estudos sobre PAMPs foram concluídos com células bovinas. Até agora, constatou-se que as células imunológicas bovinas contêm TLR2 e TLR4 (Werling et al, 2004). Os polimorfismos foram observados em receptor bovino TLR4 que pode determinar a suscetibilidade à doença respiratória bovina e a doença de Johne (White et al, 2003).

C3b e C3bi são componentes da cascata complementar enquanto que o receptor Fc se liga à "região constante" de anticorpos. Assim, os agentes patogênicos que estão protegidos com fatores complementares ou anticorpos (por exemplo, os agentes patogênicos formados opsoninas) são mais reconhecidos por neutrófilos ativadas e são subsequente fagocitados. Em outras palavras, os neutrófilos ativados possuem diversos meios de reconhecer os agentes patogênicos (Tabela 1).

Fagocitose e Destruição.

A ligação de neutrófilos (e outras células fagocíticas) a marcadores de agentes patogênicos presentes na superfície das células por meio destes

receptores permite então que a célula fagocítica engolfe o agente patogênico invasor e o "mate" (Figura 3). Atualmente são conhecidos dois mecanismos de "destruição". São eles: 1) uma explosão oxidativa, onde o fagócito expressa espécies de oxigênio reativo que destrói o agente patogênico invasor, e 2) fusão do agente patogênico engolfado com uma estrutura tipo lisossoma para formar um "fagossoma". O fagossoma é rico em enzimas digestivas que media a completa digestão dos agentes patogênicos.

Infecções Comuns.

As espécies mamíferas e aviárias são constantemente atingidas por agentes patogênicos no trato gastro-intestinal e no pulmão. Estes são pontos importantes para os neutrófilos residentes, onde minimizam a invasão patogênica. Além disto, a glândula mamária dos mamíferos representa um local atrativo para a entrada de agentes patogênicos. Em todas as infecções, o sistema imunológico inato exerce um papel inicial fundamental na defesa contra o ataque imunológico inicial. O sistema inato é essencial para permitir que o sistema adaptativo (mediado por anticorpos) desenvolva e articule uma resposta imunológica mais específica e direta.

Cooperação entre o Sistema Inato e o Adquirido nos Ruminantes.

Os anticorpos específicos para um agente patogênico invasor penetram um local de infecção com o objetivo de otimizar a eliminação deste invasor. Indivíduos com uma alta titulação contra um antígeno específico são capazes de liberar estes anticorpos no local de infecção por meio de um endotélio permeável (decorrente de uma resposta inflamatória). A chegada de anticorpos reativos (por exemplo, IgG₂) nos alvéolos cobre (opsoniza) o agente patogênico e, conforme observado anteriormente, permite o reconhecimento dos agentes patogênicos pelos neutrófilos por meio dos receptores Fc (Tabela 1) e que ocorra a fagocitose.

Stress e Função Imunológica.

O stress reduz as habilidades individuais de combater doenças. Os efeitos negativos do stress sobre o sistema imunológico são mediados pelos hormônios esteroidais do stress (cortisol, hidrocortisona e corticosterona). Burton e colegas da Universidade Estadual de Michigan (Weber et al, 2001) identificaram o mecanismo pelo qual o stress causa uma redução da função imunológica. Em especial, eles documentaram que os glicocorticóides (por exemplo, o cortisol) "sobe" próximo de um parto (Figura 4) e reduz a expressão da L-selectina nos

neutrófilos (Figura 5). Isto compromete um aspecto importante de uma primeira linha de defesa de um indivíduo contra uma investida de um agente patogênico. Especialmente, um indivíduo estressado com imunidade suprimida possui redução na sua habilidade de monitorar o alinhamento celular endotelial para os locais de infecção e em atacar e seqüestrar os agentes patogênicos. Isto pode resultar em uma infecção. (Figura 6).

Sumário da invenção

O objetivo da presente invenção é o de fornecer um método novo e desconhecido anteriormente que aumenta o sistema imunológico nas espécies mamíferas e aviárias. A invenção pode ser aplicada, embora não esteja limitada, às espécies mamíferas e aviárias, e visa reduzir a suscetibilidade de um indivíduo a doenças provenientes de fungos e bactérias.

Um outro objetivo desta invenção é a de propiciar um método de aumento da função imunológica e, assim, minimizar ou prevenir morbidades e mortalidades causadas, não exclusivamente, por fungos e bactérias, com uma preparação que compreende uma combinação de β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, β -glucanas, terra diatomácea, glucomananas, e argila mineral, tais como silicato de alumínio, argila montmorilonita, bentonita ou zeólita.

Outro objetivo da invenção é fornecer uma composição que compreende uma combinação de β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, β -glucanas, terra diatomácea, argila mineral, e glucomananas, que aumenta aditivamente a função imunológica e, com isto, reduz o potencial de fungos e bactérias patogênicas de causarem morbidades e mortalidades nas espécies mamíferas e aviárias.

Outros objetivos, vantagens e características novas da invenção são expressos, em parte, na descrição que segue e, em parte, se tornarão aparentes para aqueles versados na arte pelo exame das informações seguintes ou poderão ser apreendidos da prática da invenção. Para atingir os objetivos acima descritos e outros, e de acordo com os propósitos da presente invenção, conforme descrito neste documento, descreve-se um método novo de aumento da função imunológica nas espécies mamíferas e aviárias. Em particular, esta invenção aumenta a expressão da L-selectina e interleucina-1 β no neutrófilo e, com isto, minimiza ou elimina a colonização das superfícies epiteliais e dos tecidos parenquimais adjacentes por fungos e bactérias patogênicas, e reduz as

populações de organismos patogênicos no sangue e, assim, minimiza ou elimina patologias diretamente causadas por esta colonização. A invenção compreende uma mistura de β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, β -glucanas, terra diatomácea, argila mineral, e glucomananos. A terra diatomácea é a de nível comercial padrão disponível de uma variedade de fontes. O β -1,3(4)-endoglucanohidrolase é produzido da fermentação submersa de uma classe de *Trichoderma longibrachiatum*. O β -1,3(4) glucanas e glucomananos são derivados de um produto comercial e são uma extração de alguns dos inúmeros organismos em fermentação. O produto de argila mineral é de um nível comercial padrão (como exemplo, se incluem, mas não limitados a estes, a argila montmorillonita, bentonita e zeólita). As extrações e produções de terra diatomácea, extração de parede de célula em fermentação e argila mineral são bem conhecidas na arte e disponíveis comercialmente.

As composições que são apresentadas na invenção podem ser oferecidas como alimento para qualquer espécie mamífera ou aviária, incluindo, mas não se limitando, aos bovinos, eqüinos, ovinos, caprinos e espécies aviárias. Quando misturado com a ração ou alimento ou incluído como um complemento, o objeto da invenção aumenta a função imunológica, reduzindo, assim, a colonização de agentes patogênicos. A invenção também minimiza ou elimina a invasão do compartimento sangüíneo por fungos ou bactérias patogênicas. A invenção desta maneira minimiza ou elimina as manifestações das patologias associadas comumente com as infecções epiteliais e sistêmicas por fungos e bactérias. A administração do produto pode ser profilática (por exemplo, para prevenir a colonização e o crescimento de espécies de fungos e bactérias patogênicas nas espécies mamíferas e aviárias), como um aditivo a rações e alimentos infectados com fungos e bactérias patogênicas, ou como um método preferido para tratar e, com isto, minimizar ou eliminar uma infecção existente, diagnosticada ou não, por fungos ou bactérias. A aplicação da invenção conforme descrita neste documento e por meio de mecanismos específicos e novos descritos neste documento minimizará e possivelmente eliminará as manifestações de infecções fúngicas e bacterianas. A aplicação da invenção conforme descrito neste relatório minimizará ainda ou possivelmente eliminará as manifestações associadas com a presença de organismos fúngicos e bacterianos patogênicos, conforme identificados acima, no alimento ou ração de espécies mamíferas e aviárias.

Breve descrição dos desenhos

Os desenhos anexos formam parte do relatório e ilustram diversos aspectos da presente invenção e, juntos com a Descrição Detalhada, servem para explicar os detalhes da invenção. As figuras 3, 7 e 9 são micrografias. As fontes das figuras são indicadas ao fim do respectivo texto.

- Figura 1.** Movimento de neutrófilos em um vaso sangüíneo. A L-selectina (CD62L) é mostrada como círculos sobre a superfície do neutrófilo. Isto permite o aporte do neutrófilo no endotélio. Observe a corrente de L-selectina e a migração de neutrófilo no tecido periférico em direção a um local de infecção (F). Fonte: Burton e Erskine, 2003.
- Figura 2.** Receptores tipo Toll na superfície de uma célula imune e a transdução de sinal seguinte a ligação de TLRs com PAMPs microbianos.
- Figura 3.** Em um processo chamado fagocitose, esta célula macrófaga engolfa uma bactéria. Receptores tipo *Toll* e outros orientam os fagócitos a reconhecer os micróbios. Observe as projeções por pseudopodia em torno da bactéria. Fonte: Travis, 2002.
- Figura 4.** Níveis de cortisol em gado leiteiro no dia do parto. Observe que os o cortisol chega no ponto de pico no dia do parto. Fonte: Weber et al., 2001.
- Figura 5.** As colunas representam a concentração de L-selectina em neutrófilo de gado no dia do parto. Fonte: Weber et al., 2001.
- Figura 6.** Neutrófilos com falta de expressão de L-selectina (CD62L) em um gado leiteiro em situação de stress. Fonte: Burton e Erskine, 2003.
- Figura 7.** O efeito de 5 tratamentos experimentais em concentrações de L-selectina em neutrófilo em um experimento conduzido com 60 carneiros.
- Figura 8.** Densitometria por escaneamento dos dados mostrados na figura 7.
- Figura 9.** Análise de interleucina-1 β em neutrófilo nas mesmas amostras de neutrófilo de carneiro apresentadas na figura 7.
- Figura 10.** Densitometria de escaneamento de dados mostrados na figura 9.
- Figura 11.** As concentrações de *Aspergillus fumigatus* nas amostras de sangue tomadas dos carneiros no 28º dia do estudo.

Descrição detalhada da invenção

A presente invenção está baseada na descoberta inovadora de que uma combinação de β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, β -glucanas, terra diatomácea, argila mineral, e glucomananas efetivamente aumenta a função imunológica e
5 reduz a colonização de tecidos e do sangue por um agente patogênico.

O β -1,3(4)-endoglucanohidrolase está disponível comercialmente e é produzido da fermentação submersa de uma classe de *Trichoderma longibrachiatum*.

A terra diatomácea é preparada por métodos normalmente conhecidos na
10 arte. Ele está disponível como um produto lavado a ácido, e é disponível comercialmente com 95% de sílica (SiO_2) e seus componentes restantes não ensaiados, mas consistindo principalmente de cinza (minerais) como definido pela Associação dos Químicos Analíticos (AOAC, 2002).

O extrato da parede celular de levedura é preparado por um método
15 comumente conhecido na arte. É uma fonte comercial de β -1,3(4)glucanas e glucomananas derivado de levedura inativada primária (*Saccharomyces cerevisiae*) com a seguinte composição química:

Umidade 2-3%

Parte seca 97-98%

20 Proteínas 14-17%

Gorduras 20-22%

Fósforo 1-2%

Mananas 22-24%

β -1,3(4) glucanas 24-26%

25 Cinza 3-5%

As argilas minerais (aluminossilicatos) usadas nesta invenção podem ser escolhidas de uma variedade de argilas disponíveis comercialmente incluindo, mas não limitadas aos tipos montmorilonita, bentonita e zeólita.

Em uma versão preferida da invenção, β -1,3(4)-endoglucanohidrolase,
30 terra diatomácea, extrato de parede celular de levedura e argila mineral são combinados respectivamente a 0.05-3%, 1-40%, 1-20% e 40-92%. Em uma composição preferida, β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, terra diatomácea, extrato de parede celular de levedura e argila mineral são combinados respectivamente a 0.1-3%, 5- 40%, 2-10% e 40-80%. Em uma versão especialmente preferida da

invenção, β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, terra diatomácea, extrato de parede celular de levedura e argila mineral são combinados respectivamente a 0.2-3%, 30-40%, 4-6% e 50-65%. A configuração física preferida da invenção é um pó seco e fino adequado para inclusão direta em uma ração ou alimento ou como um
5 suplemento a uma ração ou dieta misturada total.

As composições fornecidas pela invenção podem ser incorporadas diretamente em produtos de ração ou em alimentos disponíveis comercialmente ou oferecidas como suplementos aos produtos de ração ou alimentares. A composição contida na presente invenção pode ser oferecida a todas as espécies
10 mamíferas ou aviárias. Os métodos da invenção abrangem o aumento da função imunológica em espécies mamíferas e aviárias. Quando incorporadas diretamente nas rações, a presente invenção pode ser adicionada às rações em quantidades que variam de 0.1 a 5 kg por tonelada de ração. Em uma composição especialmente preferida, a invenção pode ser adicionada às rações em quantias
15 que variam de 1-2 kg por tonelada de ração.

A composição da presente invenção pode ser adicionada a rações para animal ou a alimentos em quantias variando entre 0.0125% a 2% por peso de ração. Em uma versão preferida, a composição é adicionada a rações para animal ou a alimentos em quantias de 0.0625% a 1% por peso de ração. Em uma versão
20 especialmente preferida, a invenção é adicionada em quantias de 0.125% a 0.5% por peso de ração.

De forma alternativa, a composição da presente invenção pode ser oferecida diretamente às espécies mamíferas e aviárias como um suplemento em quantias de 0.016 gramas/kg a 0.37 gramas/kg de peso corporal vivo por dia. Em
25 uma versão especialmente preferida, a invenção pode ser oferecida às espécies mamíferas e aviárias em quantias de 0.10 gramas/kg a 0.20 gramas/kg de peso corporal por dia. Uma pessoa versada na arte pode observar que a quantia de ração da invenção pode variar dependendo das espécies animais, do tamanho do animal e do tipo de ração a que a invenção for adicionada.

Os novos métodos desta invenção compreendem a habilidade de uma
30 combinação de β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, terra diatomácea, extrato de parede celular de levedura e argila para aumentar a função imunológica. Os benefícios resultantes da aplicação desta invenção nas espécies mamíferas incluem, mas não estão limitados, a redução de perdas por mortes, redução da

incidência de absorção micótica, redução da incidência de síndrome de hemorragia jejunal (síndrome de boa morte), redução da incidência de disenteria (diarréia), aumento da taxa de nascimento, melhorada eficiência de crescimento, melhorada produção de leite, melhorada eficiência de produção de leite e redução das contagens de células nos produtos derivados do leite (animais leiteiros). Os benefícios da aplicação da invenção a espécies aviárias incluem, mas não estão limitados, à redução de perdas por morte, crescimento melhorado e produção de ovos, fertilidade melhorada, e incidência reduzida de doenças entéricas.

Os seguintes exemplos pretendem ilustrar a invenção, e não devem ser considerados restritivos ao escopo da invenção, conforme do contrário descrito neste documento.

Exemplo 1

Uma experiência foi conduzida usando 60 carneiros vivos, machos e fêmeas. Os carneiros foram distribuídos entre um dos 5 tratamentos (7 fêmeas e 5 machos por tratamento):

1. Controle.
2. Imunosuprimido (injeções diárias de Azium [Dexametisona], 0.1 mg/kg duas vezes ao dia).
3. Imunosuprimido mais produto experimental oferecido a 0.5% de ingestão diária de material seco.
4. Imunosuprimido mais alimento com levedura (adição de *Aspergillus fumigatus*- produto de trigo infectado; 1.5 lbs/por indivíduo/dia).
5. Imunosuprimido mais alimento mofado (como no Tratamento 4) mais o produto alimentar experimental conforme indicado no Tratamento 3.

Os animais foram alimentados com uma dieta para estimular a produção de leite por um período de 28 dias. A imunossupressão foi mediada nos Tratamentos 2, 3, 4 e 5 por injeção diária de Azium usando uma alta dose (um modelo de stress extremo: Weber et al, 2001). Os carneiros dos Tratamentos 4 e 5 foram contaminados com um elemento patogênico por meio da alimentação com produto de trigo que tinha sido contaminado com um elemento patogênico (*Aspergillus fumigatus*). Os carneiros dos Tratamentos 3 e 5 foram suplementados com a composição da invenção a uma taxa de 0.5% de sua ingestão de matéria seca diária. Após 28 dias, as amostras de sangue foram tiradas via perfuração jugular e as frações de neutrófilos e foram isolados usando centrifugação de

gradiente de densidade *Percoll*. Seguente a este procedimento, as amostras de proteína de neutrófilo foram processadas usando eletroforese em gel de poliacrilamida sulfato dodecílico de sódio e *Western blotting* usando anticorpos que são específicos para L-selectina e interleucina-1 β . As concentrações relativas de L-selectina e interleucina-1 β foram avaliadas usando densitometria de escaneamento.

As Figuras 7 e 8 demonstram efeitos dos tratamentos experimentais em L-selectina de neutrófilo. A injeção de Azium causou uma redução visível ($P < 0,05$) de L-selectina e fornece evidência de que a injeção de Azium foi, de fato, imunossupressiva. A adição de uma levedura às dietas não obteve qualquer efeito ($P > 0,05$) sobre as concentrações de L-selectina. De interesse, a adição da composição da invenção à ração (Tratamentos 3 e 5) causou a restauração (aumento: $P < 0,05$) de L-selectina.

Interpretação.

A nova invenção restaurou de forma bem sucedida (aumentou) os níveis normais de L-selectina em neutrófilos. A restauração da L-selectina nas superfícies do neutrófilo restabeleceu sua habilidade de monitorar o revestimento endotelial para agentes patogênicos.

As Figuras 9 e 10 demonstram os efeitos dos 5 tratamentos experimentais sobre as concentrações de interleucina-1 β no neutrófilo. O tratamento com Azium ocasionou uma redução significativa ($P < 0,05$) na concentração de interleucina-1 β em neutrófilo. Isto demonstra que o Azium foi imunossupressivo. A nova invenção não apresentou qualquer efeito ($P > 0,05$) sobre a interleucina-1 β nos neutrófilos na ausência de uma invasão patogênica (por exemplo, o Tratamento 3 em comparação com o Tratamento 2); entretanto, a invenção ocasionou um aumento significativo ($P < 0,05$) de interleucina-1 β nos neutrófilos na presença de uma invasão patogênica (por exemplo, o Tratamento 5 em comparação com o Tratamento 4).

Interpretação.

A Interleucina-1 β é uma citosina pró-inflamatória importante que permite que o neutrófilo cumpra sua função como um fagócito. A habilidade do produto de ração de restaurar a interleucina-1 β na presença de um agente patogênico (*A. fumigatus*) demonstra os efeitos potenciais dos agentes patogênicos da invenção sobre a função imunológica.

A Figura 11 mostra os efeitos dos tratamentos experimentais sobre as concentrações de sangue de *Aspergillus fumigatus*. As concentrações de *A. fumigatus* foram determinadas usando um ensaio (PCR) de cadeia de polimerase quantitativa em tempo real com agente *Sybr-Green* desenvolvido em
5 nosso laboratório. Os resultados demonstram que a invenção reduziu ($P < 0,05$) a concentração de *A. fumigatus* no sangue.

Interpretação.

A restauração da função do neutrófilo mostrada nas Figuras 7-10 se automanifesta reduzindo a carga patogênica detectada dentro do compartimento
10 sanguíneo. A invenção reduz a carga patogênica.

Estes resultados mostram que a composição da invenção (por exemplo, a argila mineral, extrato de parede celular de levedura, terra diatomácea e β -1,3(4)-endoglucanohidrolase) é capaz de um efeito não descrito anteriormente de aumento da função imunológica. A invenção restaura especificamente os
15 níveis de L-selectina e de interleucina-1 β nos neutrófilos, restaurando assim a habilidade dos neutrófilos de monitorar a presença de agentes patogênicos invasores.

A combinação de produtos aumenta a imunidade em espécies mamíferas e aviárias e, com isto, impede a invasão e colonização do compartimento
20 sangüíneo. Ela representa uma mistura em forma de flocos e que é facilmente incorporada aos produtos de ração e produtos alimentícios. A presente invenção foi efetiva no alcance dos efeitos imunoestimulatórios sob condições de crescimento que podem ser encontradas em sistemas digestivos de mamíferos e aviários, onde os nutrientes, umidade, oxigênio e elevadas temperaturas são
25 fornecidos por um hospedeiro.

A precedente descrição da versão preferida da invenção foi apresentada para fins de ilustração e descrição. Ela não pretende ser exaustiva ou limitar a invenção à configuração exata divulgada. As modificações óbvias ou variações são possíveis à luz das ilustrações acima. A versão foi escolhida e descrita para
30 fornecer uma melhor ilustração dos princípios da invenção e sua aplicação prática, de forma a permitir que uma pessoa com habilidade comum na arte possa utilizar a invenção em várias versões e com modificações adequadas para o uso particular contemplado. Todas estas modificações e variações estão dentro do escopo da invenção, conforme definidas pelas reivindicações anexas, quando

interpretadas de acordo com o efeito geral que elas estão intituladas de forma justa, legal e imparcial.

Tabela 1. Sumário de mecanismos pelos quais os neutrófilos podem reconhecer / se ligar a agente patogênico antes do processo de fagocitose.

Receptor de Neutrófilo	PAMP ¹ ou Ligante	Comentário
CD14	Lipopolissacarídeo	Orienta a ligação ao agente patogênico
CD18	Lipopolissacarídeo	Orienta a ligação ao agente patogênico
TLR2	Lipoproteína, peptidoglicano, ácido lipotênico	Orienta a ligação ao agente patogênico
TLR3	RNA em fita dupla derivado de vírus	Orienta a ligação ao agente patogênico
TLR4	Lipopolissacarídeo	Orienta a ligação ao agente patogênico
TLR5	Flagelina	Orienta a ligação ao agente patogênico
TLR7/8	Pequenas moléculas antivirais sintéticas	Orienta a ligação ao agente patogênico
TLR9	DNA CpG não-metilado	Orienta a ligação ao agente patogênico
C3b/C3bi	Fatores complementares	Liga-se ao agente patogênico opsonizado
Fc	"região constante" de anticorpos	Liga-se ao agente patogênico opsonizado

(¹)PAMP: Modelo molecular associado a agente patogênico

REIVINDICAÇÕES

1. COMPOSIÇÃO **caracterizada por** compreender uma combinação de β -glucanas, β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, terra diatomácea calcinada, uma argila mineral, e glucomananos a qual é misturada em alimentos e rações para animais aumentando, assim, a função imunológica em espécies de mamíferos e de aves e, dessa forma, reduzindo a susceptibilidade a uma infecção.
2. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** o sistema imunológico inato ser aumentado em espécies de mamíferos e de aves.
3. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** o sistema imunológico inato ser aumentado em espécies de mamíferos e de aves imunossuprimidos.
4. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** L-selectina e Interleucina-1 β , que serve como indicador de função imunológica inata, serem aumentadas em espécies de mamíferos e de aves.
5. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** espécies de mamíferos incluir todos animais ruminantes.
6. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** espécies de mamíferos incluir gado leiteiro, gado de corte e ovinos.
7. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** espécies de mamíferos incluir ovinos.
8. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** espécies de aves incluir espécies de aves domésticas utilizadas na produção pecuária comercial.
9. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizada por** espécies de mamíferos incluir todos animais ruminantes.
10. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizada por** espécies de mamíferos incluir gado leiteiro, gado de corte e ovinos.
11. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizada por** espécies de mamíferos incluir ovinos.
12. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizada por** espécies de aves incluir espécies de ave utilizadas na produção pecuária comercial.
13. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizada por** espécies de mamíferos incluir todos animais ruminantes.
14. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizada por** espécies

de mamíferos incluir gado leiteiro, gado de corte e ovinos.

15. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizada por** espécies de mamíferos incluir ovinos.

5 16. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizada por** espécies de aves incluir espécies de ave utilizadas na produção pecuária comercial.

17. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizada por** espécies de mamíferos incluir todos animais ruminantes.

18. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizada por** espécies de mamíferos incluir gado leiteiro, gado de corte e ovinos.

10 19. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizada por** espécies de mamíferos incluir ovinos.

20. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizada por** espécies de aves incluir espécies de ave utilizadas na produção pecuária comercial.

15 21. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** o produto argila mineral ser montmorilonita, bentonita, aluminossilicato ou argilas zeolíticas ou suas misturas.

22. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** β -1,3(4)-endoglucanohidrolase ser produzido a partir da fermentação submersa de *Trichoderma longibrachiatum*.

20 23. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** β -glucanas e glucomananas serem derivados de fervura e autólise enzimática das paredes celulares de leveduras gram-positivas do gênero *Saccharomyces*.

24. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 23, **caracterizada por** β -glucanas e glucomananas serem derivados de fervura e autólise enzimática das paredes celulares de leveduras gram-positivas de *Saccharomyces cerevisiae*.

25 25. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** a terra diatomácea ser calcinada a uma temperatura mínima de 900°C.

26. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** a composição compreender entre 15% e 40% de terra diatomácea, entre 50% e 81% de argila mineral, entre 1,0% e 5,0% de β -glucanas, entre 0,05% e 3,0% de β -1,3(4)-endoglucanohidrolase e entre 1% e 8,0% de glucomananas.

27. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** a composição compreende entre 20% e 30% de terra diatomácea, entre 60% e 75% de argila mineral, entre 1,0% e 3,5% de β -glucanas, entre 0,1% e 3,0% de

β -1,3(4)-endoglucanohidrolase e entre 1,0% e 6,0% de glucomananas.

28. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por a combinação de terra diatomácea, uma argila mineral, β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, β -glucanas e glucomananas ser misturada em alimentos ou rações para animais numa concentração entre 0,0125% e 5% em peso com o propósito de inibir o crescimento de fungos, em rações, alimentos ou digesta.

29. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por dita composição ser misturada em alimentos ou rações animais e ser subsequente servida aos animais domésticos vivos.

30. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por dita composição ser misturada em alimentos ou rações animais e ser subsequente servida a ruminantes vivos ou aves domésticas vivas.

31. COMPOSIÇÃO caracterizada por ser misturada em alimentos e rações para animais com a finalidade de inibir o crescimento de mofo patogênico nos alimentos, rações para animais e digesta compreendendo uma combinação de β -glucanas, β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, terra diatomácea calcinada, uma argila mineral e glucomananas, inibindo assim o crescimento de mofo patogênico tanto no alimento ou ração animal quanto na digesta passando pelo animal, reduzindo assim a susceptibilidade a uma colonização micótica do trato digestivo e micoses invasivas.

32. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 31, caracterizada por as espécies infectantes de mofo incluírem pelo menos uma dentre *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Eupennicillium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rachiborskiomyces* e outros gêneros que integram a classificação taxonômica de fungos.

33. MÉTODO PARA INIBIR O CRESCIMENTO DE MOFO PATOGENICO EM ALIMENTOS E RAÇÕES ANIMAIS caracterizado por compreender uma combinação de terra diatomácea calcinada, uma argila mineral, β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, β -glucanas e glucomananas, para espécies animais ou aviárias, desse modo inibindo o crescimento de mofo tanto no alimento ou ração animal como na digesta que passa pelo animal, reduzindo assim a susceptibilidade a uma colonização micótica do trato digestivo.

34. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 33, caracterizado por o montante

da composição incorporada na dieta compreender entre 0,0125% e 5% em peso da ingestão diária dos animais.

- 5 **35. MÉTODO**, de acordo com a reivindicação 33, **caracterizada por** as espécies de mofo infectante incluírem pelo menos uma dentre *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rachiborskiomyces* e outros gêneros que integram a classificação taxonômica de fungos.

36. COMPOSIÇÃO caracterizada por compreender uma combinação de β -glucanas, β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, terra diatomácea calcinada, um argila mineral e glucomananas que é misturada em alimentos e rações.

FIG. 1

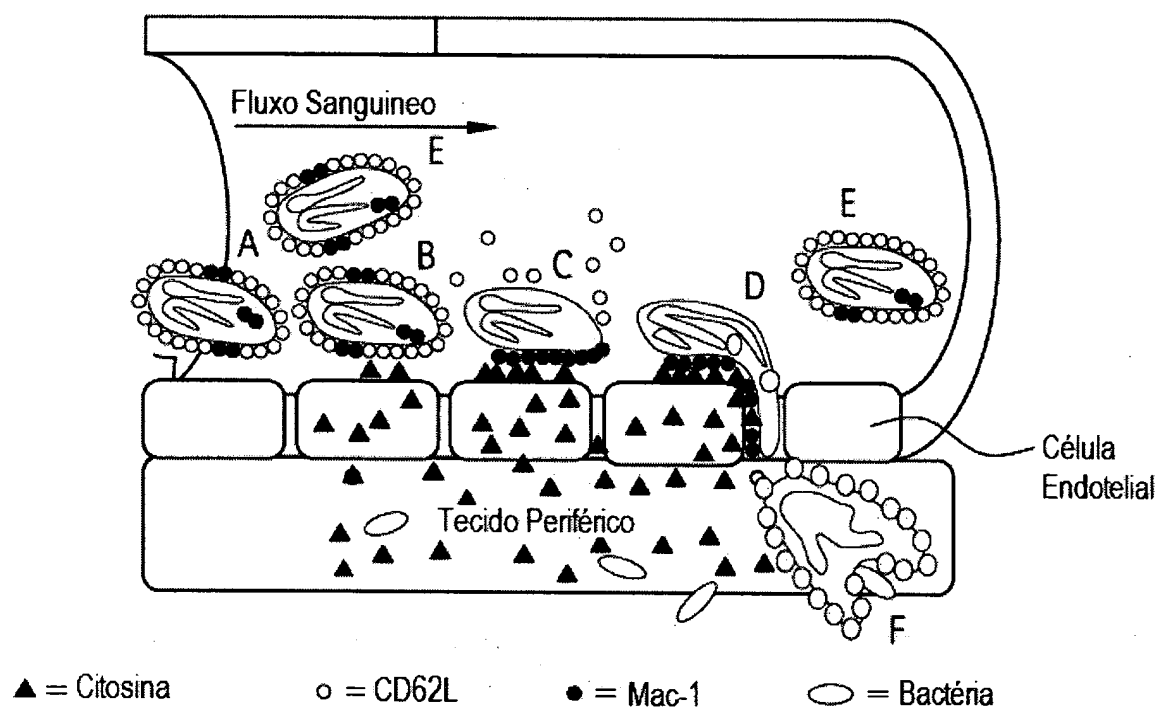


FIG.2

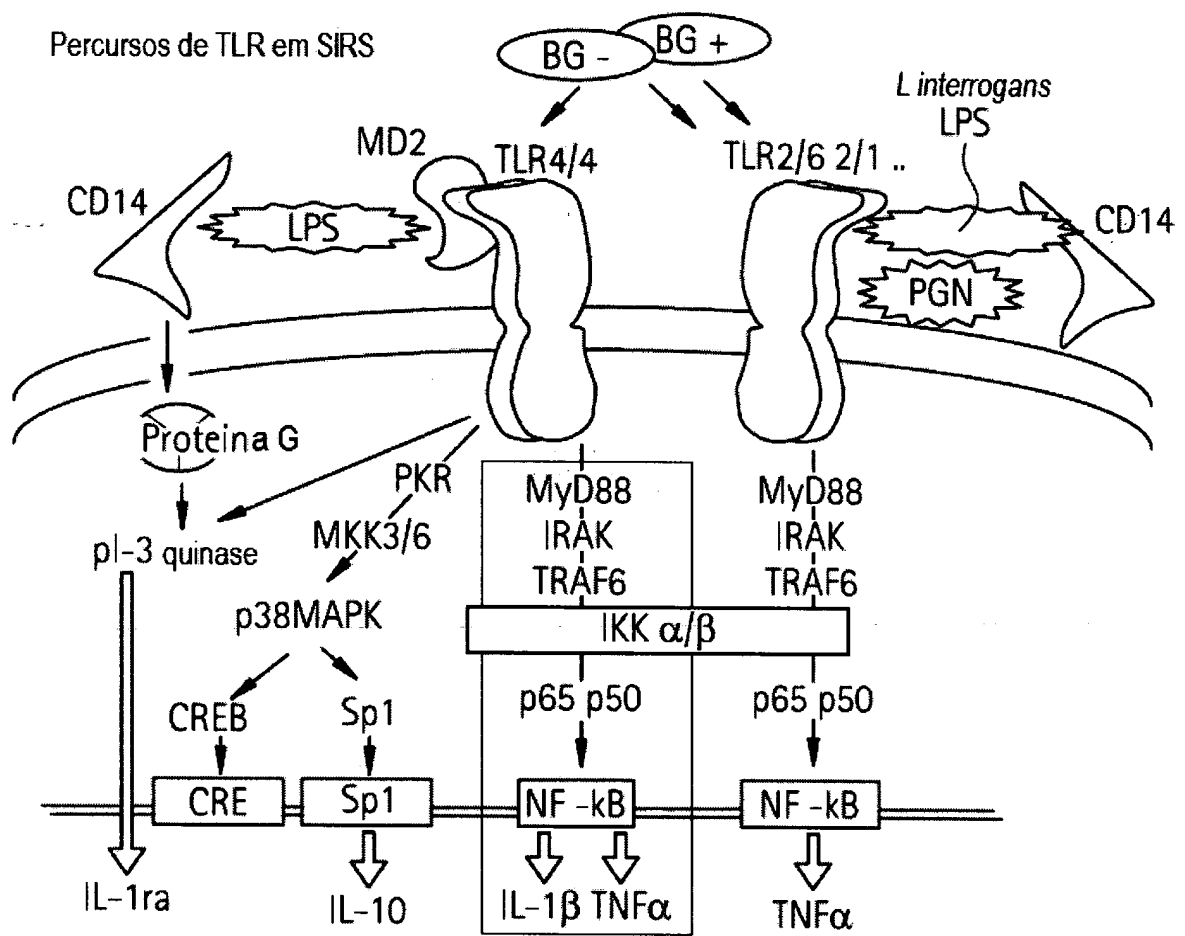


FIG. 3



FIG. 4

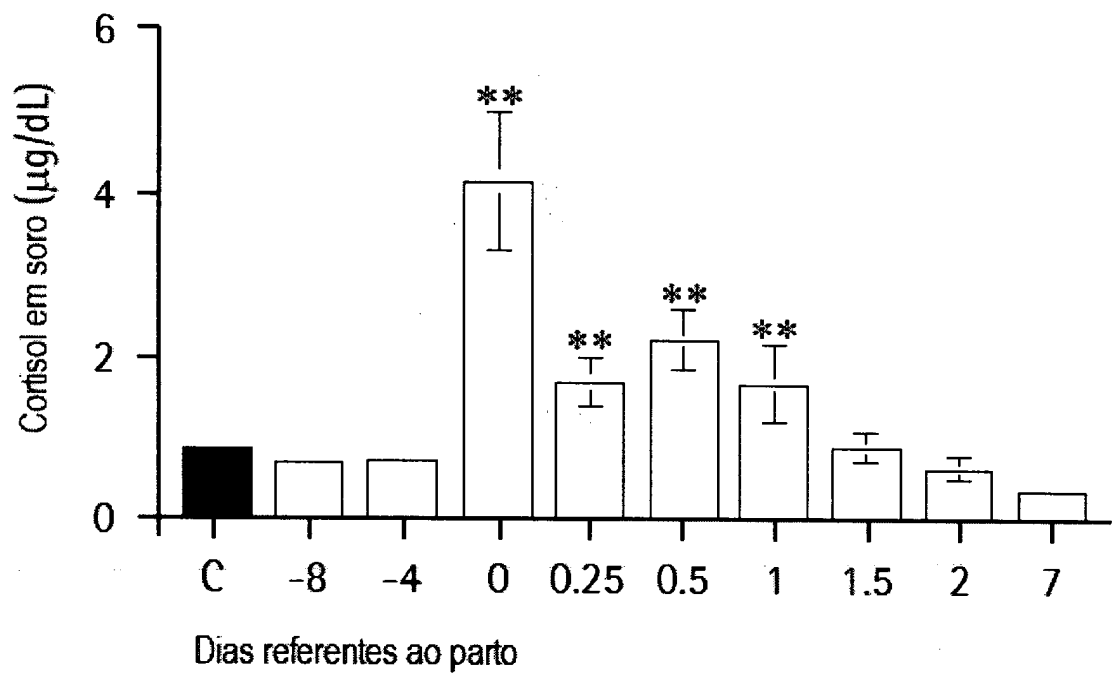


FIG. 5

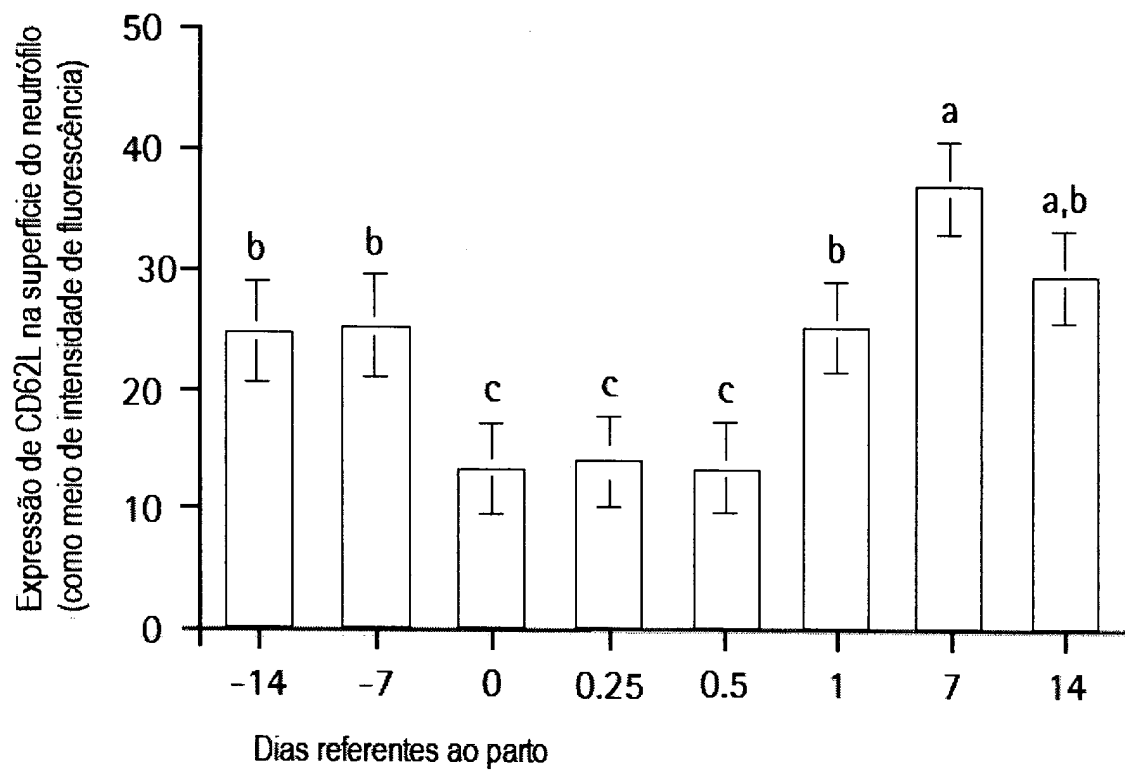


FIG. 6

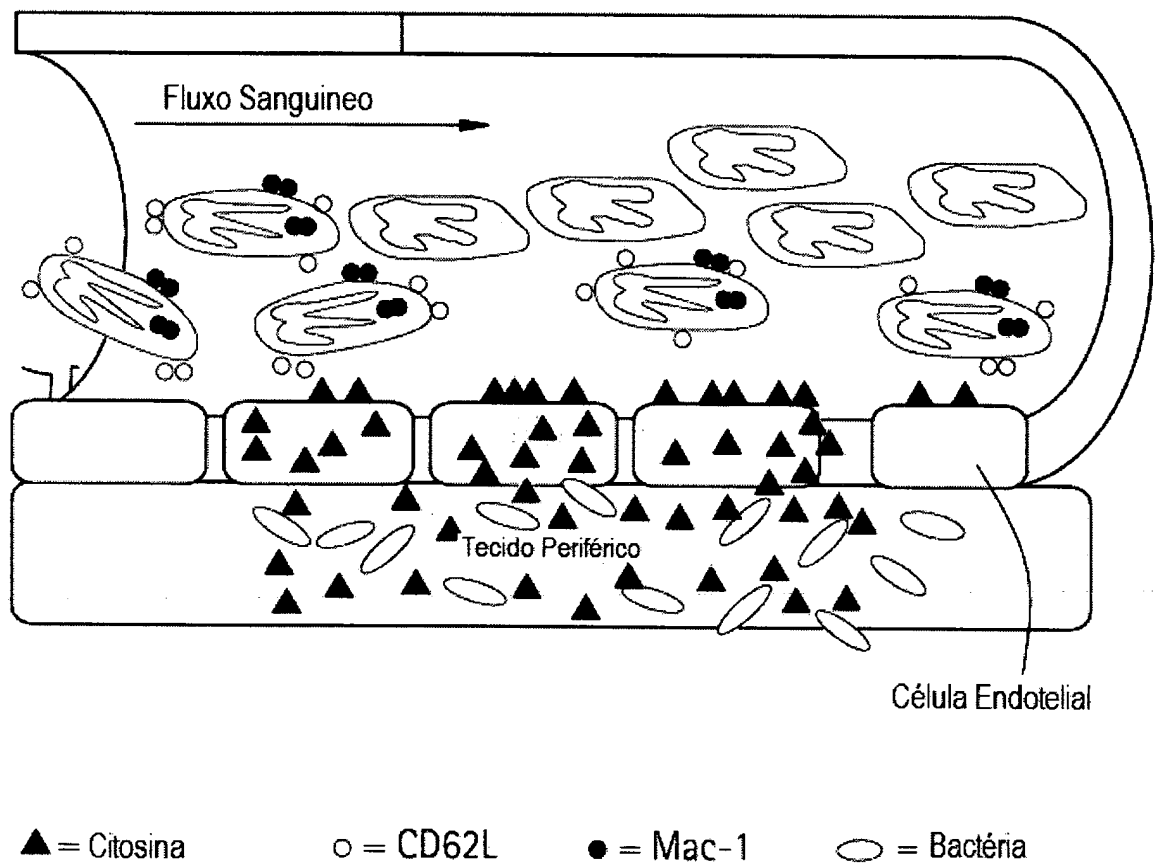


FIG. 7

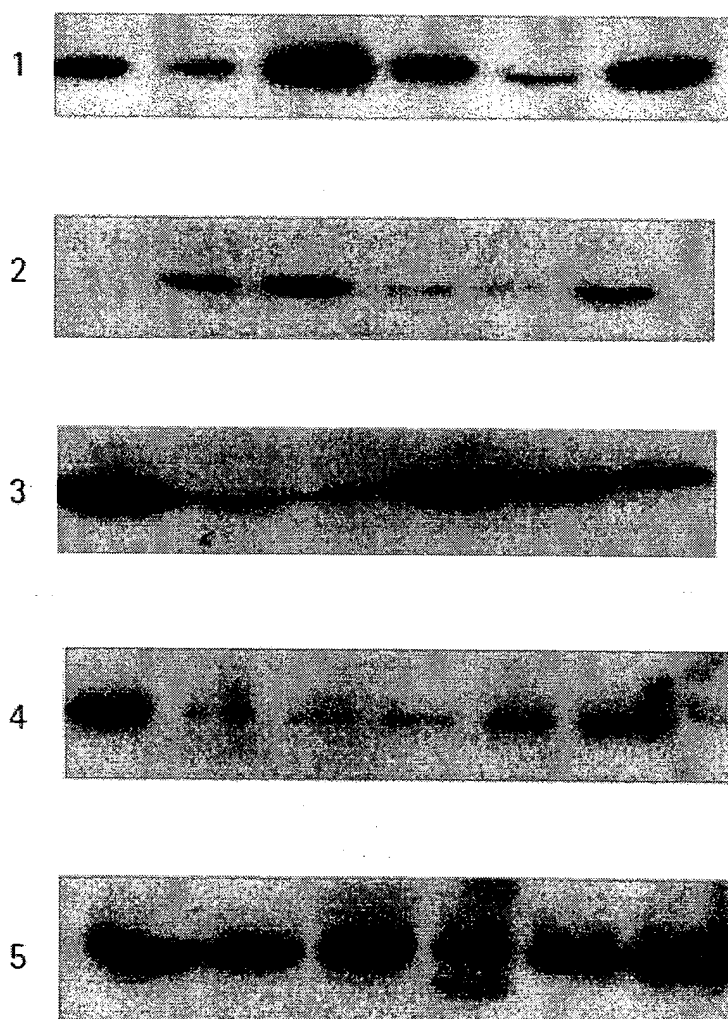


FIG. 8

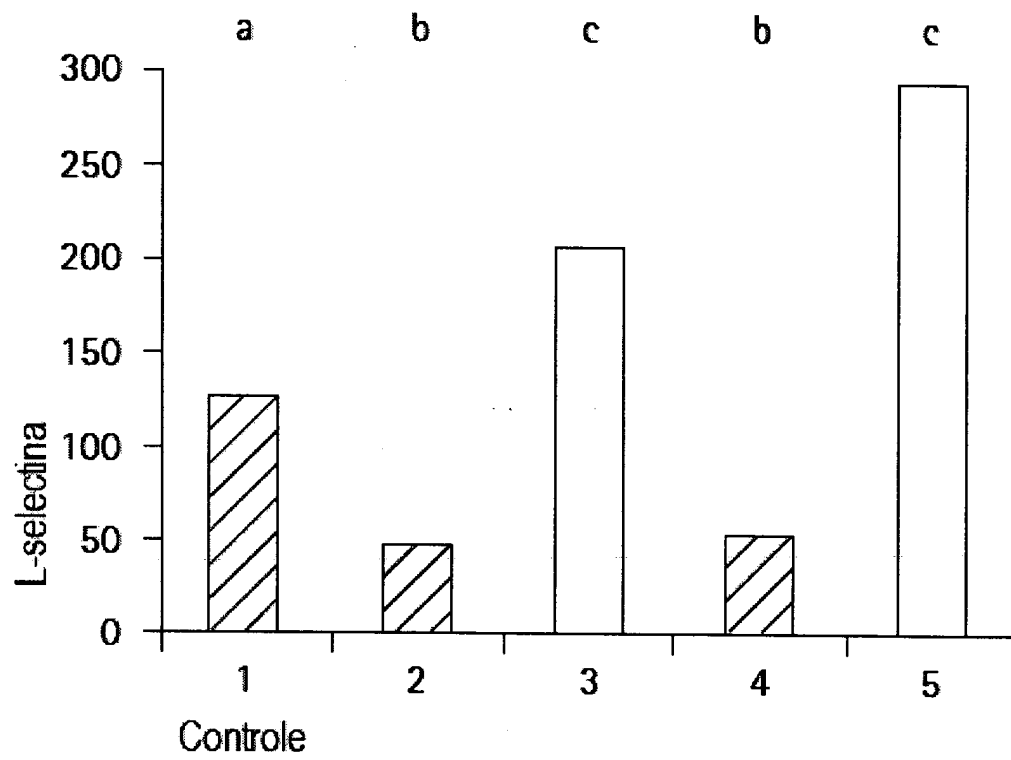


FIG. 9

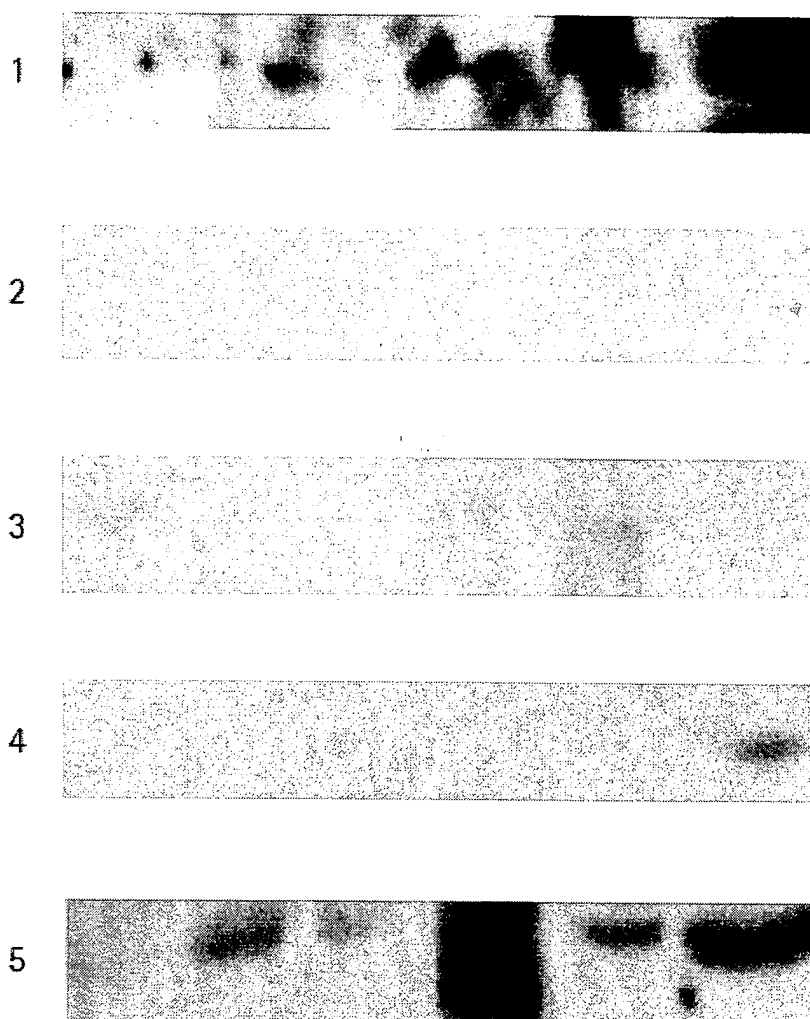


FIG. 10

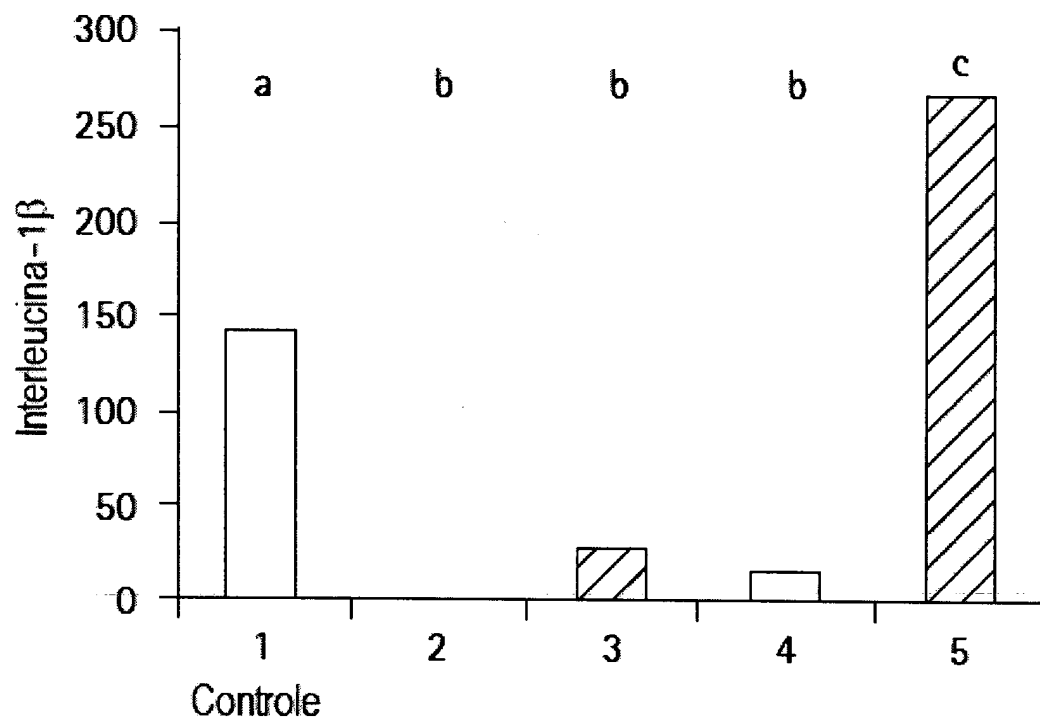
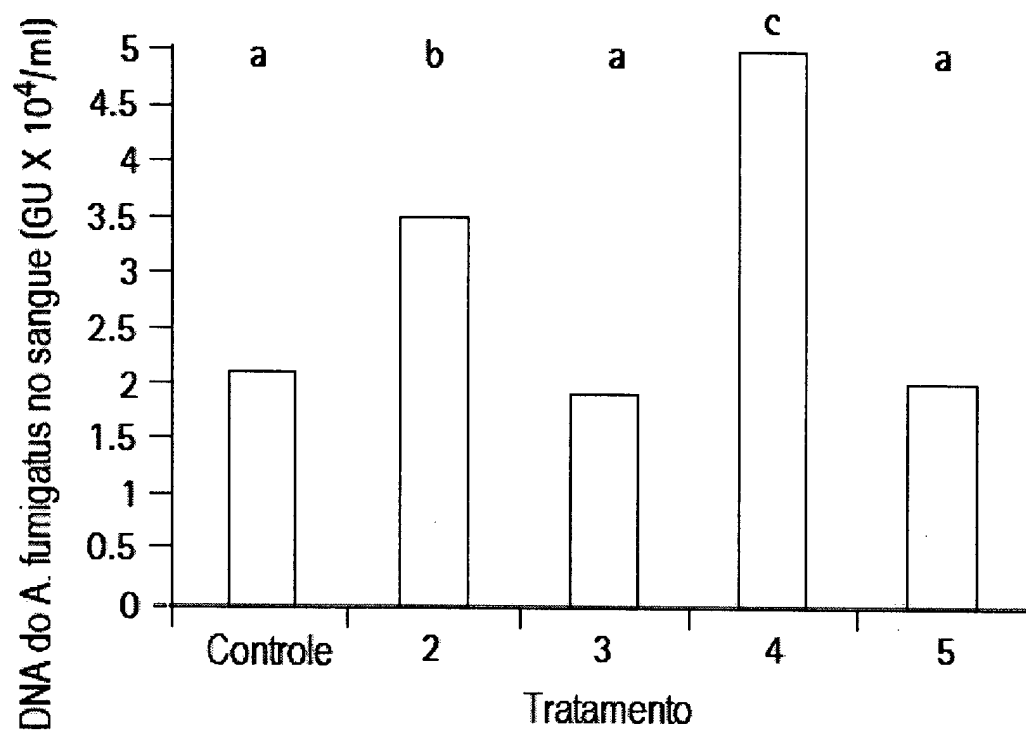


FIG. 11



RESUMO**COMPOSIÇÃO DE β -1,3(4)-ENDOGLUCANOHIDROLASE,
 β -1,3(4)GLUCANAS, TERRA DIATOMÁCEA, ARGILA MINERAL E
GLUCOMANANAS E MÉTODO DE USO PARA AUMENTAR A FUNÇÃO
IMUNOLÓGICA**

5

Descreve-se um método para o aumento da função imunológica. A invenção compreende uma combinação de β -1,3(4)-endo-glucano-hidrolase, β -1,3(4) glucano, terra de diatomáceas, argila mineral e glucomanano, que é oferecida ou consumida por espécies mamíferas ou aviárias em quantidades suficientes para

10

aumentar a função imunológica. A invenção descrita pode ser misturada com rações e alimentos, incorporada em rações ou alimentos em grãos ou administrada às espécies mamíferas e aviárias por via oral.

**"COMPOSIÇÃO DE β -1,3(4)-ENDOGLUCANOHIDROLASE,
 β -1,3(4)GLUCANAS, TERRA DIATOMÁCEA, ARGILA MINERAL E
GLUCOMANANAS E MÉTODO DE USO PARA AUMENTAR A FUNÇÃO
IMUNOLÓGICA"**

5

R E I V I N D I C A Ç Õ E S

1. COMPOSIÇÃO caracterizada por compreender uma combinação de β -glucanas, β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, terra diatomácea calcinada, uma argila mineral, e glucomananas a qual é misturada em alimentos e rações para animais aumentando,
10 assim, a função imunológica em espécies de mamíferos e de aves e, dessa forma, reduzindo a susceptibilidade a uma infecção.
2. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por o sistema imunológico inato ser aumentado em espécies de
15 mamíferos e de aves.
3. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por o sistema imunológico inato ser aumentado em espécies de mamíferos e de aves imunossuprimidos.
4. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por
20 por L-selectina e Interleucina-1 β , que serve como indicador de função imunológica inata, serem aumentadas em espécies de mamíferos e de aves.
5. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por espécies de mamíferos incluir todos animais ruminantes.
- 25 6. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por espécies de mamíferos incluir gado leiteiro, gado de corte e ovinos.
7. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por espécies de mamíferos incluir ovinos.
- 30 8. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por espécies de aves incluir espécies de aves domésticas utilizadas na produção pecuária comercial.
9. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada por espécies de mamíferos incluir todos animais ruminantes.

10. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada por espécies de mamíferos incluir gado leiteiro, gado de corte e ovinos.
- 5 11. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada por espécies de mamíferos incluir ovinos.
12. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada por espécies de aves incluir espécies de ave utilizadas na produção pecuária comercial.
- 10 13. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 3, caracterizada por espécies de mamíferos incluir todos animais ruminantes.
14. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 3, caracterizada por espécies de mamíferos incluir gado leiteiro, gado de corte e ovinos.
- 15 15. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 3, caracterizada por espécies de mamíferos incluir ovinos.
16. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 3, caracterizada por espécies de aves incluir espécies de ave utilizadas na produção pecuária comercial.
- 20 17. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 4, caracterizada por espécies de mamíferos incluir todos animais ruminantes.
18. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 4, caracterizada por espécies de mamíferos incluir gado
- 25 leiteiro, gado de corte e ovinos.
19. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 4, caracterizada por espécies de mamíferos incluir ovinos.
20. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 4, caracterizada por espécies de aves incluir espécies de ave
- 30 utilizadas na produção pecuária comercial.
21. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por o produto argila mineral ser montmorilonita, bentonita, aluminossilicato ou argilas zeolíticas ou suas misturas.

22. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por β -1,3(4)-endoglucanohidrolase ser produzido a partir da fermentação submersa de *Trichoderma longibrachiatum*.
- 5 23. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por β -glucanas e glucomananas serem derivados de fervura e autólise enzimática das paredes celulares de leveduras gram-positivas do gênero *Saccharomyces*.
24. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 23, 10 caracterizada por β -glucanas e glucomananas serem derivados de fervura e autólise enzimática das paredes celulares de leveduras gram-positivas de *Saccharomyces cerevisiae*.
25. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por a terra diatomácea ser calcinada a uma 15 temperatura mínima de 900°C.
26. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por a composição compreender entre 15% e 40% de terra diatomácea, entre 50% e 81% de argila mineral, entre 1,0% e 5,0% de β -glucanas, entre 0,05% e 3,0% de 20 β -1,3(4)-endoglucanohidrolase e entre 1% e 8,0% de glucomananas.
27. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por a composição compreende entre 20% e 30% de terra diatomácea, entre 60% e 75% de argila mineral, entre 25 1,0% e 3,5% de β -glucanas, entre 0,1% e 3,0% de β -1,3(4)-endoglucanohidrolase e entre 1,0% e 6,0% de glucomananas.
28. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por a combinação de terra diatomácea, uma 30 argila mineral, β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, β -glucanas e glucomananas ser misturada em alimentos ou rações para animais numa concentração entre 0,0125% e 5% em peso com o propósito de inibir o crescimento de fungos, em rações, alimentos ou digesta.

29. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** dita composição ser misturada em alimentos ou rações animais e ser subsequente servida aos animais domésticos vivos.

5 30. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** dita composição ser misturada em alimentos ou rações animais e ser subsequente servida a ruminantes vivos ou aves domésticas vivas.

10 31. COMPOSIÇÃO **caracterizada por** ser misturada em alimentos e rações para animais com a finalidade de inibir o crescimento de mofo patogênico nos alimentos, rações para animais e digesta compreendendo uma combinação de β -glucanas, β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, terra diatomácea calcinada, uma argila mineral e glucomanas, inibindo assim o
15 crescimento de mofo patogênico tanto no alimento ou ração animal quanto na digesta passando pelo animal, reduzindo assim a susceptibilidade a uma colonização micótica do trato digestivo e micoses invasivas.

20 32. COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 31, **caracterizada por** as espécies infectantes de mofo incluírem pelo menos uma dentre *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Eupennicillium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rachiborskiomyces* e outros gêneros que integram a classificação taxonômica de fungos.

25 33. MÉTODO PARA INIBIR O CRESCIMENTO DE MOFO PATOGENICO EM ALIMENTOS E RAÇÕES ANIMAIS **caracterizado por** compreender uma combinação de terra diatomácea calcinada, uma argila mineral, β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, β -glucanas e glucomanas, para espécies animais ou aviárias, desse modo inibindo o
30 crescimento de mofo tanto no alimento ou ração animal como na digesta que passa pelo animal, reduzindo assim a susceptibilidade a uma colonização micótica do trato digestivo.

34. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 33, **caracterizado**

por o montante da composição incorporada na dieta compreender entre 0,0125% e 5% em peso da ingestão diária dos animais.

35. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 33, **caracterizada por** as espécies de mofo infectante incluírem pelo menos uma
5 dentre *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rachiborskiomyces* e outros gêneros que integram a classificação taxonômica de fungos.

36. COMPOSIÇÃO **caracterizada por** compreender uma combinação
de β -glucanas, β -1,3(4)-endoglucanohidrolase, terra
10 diatomácea calcinada, um argila mineral e glucomananos que é misturada em alimentos e rações.