



347295

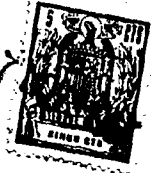
P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "UN PROCEDIMIENTO DE PRODUCCION DE UNA VACUNA ATENUADA PARA INMUNIZAR CERDOS CONTRA LA PESTE PORCINA CLASICA", a favor de FARBENTFABRIKEN BAYER A.G., domiciliado en LEVERKUSEN (Alemania). Nacionalidad alemana.

MEMORIA DESCRIPTIVA

La peste porcina clásica (PPC) es una enfermedad infectocontagiosa de la especie porcina de enorme importancia económica en todo el mundo. Dado que en los momentos actuales no se conoce ningún remedio quimioterápico contra esta enfermedad vírica todos los esfuerzos de los investigadores se orientan hacia el perfeccionamiento de los agentes inmunizantes ya conocidos o hacia la consecución de otros nuevos.

La vacunación contra la PPC ha pasado por varias fases cada una de las cuales ha venido a corregir alguno de.



- los defectos de las anteriores. De la suero-vacunación con virus vivo virulento se pasó a las vacunas muertas a base de virus virulento inactivado por diversos métodos. Posteriormente la adaptación del virus de la PPC al conejo dio
5. paso a la posibilidad de emplear vacunas vivas atenuadas. Este hecho fundamental en la inmunización contra la PPC consiste en líneas generales en dar una serie de pases sucesivos por conejos al virus virulento de forma que al final de esta serie ha perdido su especificidad para el cerdo con la
10. consiguiente pérdida de poder patógeno pero conserva su capacidad inmunizante. A pesar de que normalmente el virus modificado por pases en conejo no causa ningún tipo de trastorno visible tanto en cordos jóvenes como en adultos puede producir alteraciones en la gestación. También cabe la posibilidad
15. de que el virus recobre parte de su virulencia y produzca lesiones en cordos jóvenes.

En los últimos años ha conseguido cultivarse el virus de la PPC previamente modificado sobre cultivos celulares primarios, hallazgo de considerable importancia práctica.

20.

Los cultivos celulares primarios se consiguen colocando células vivas procedentes de un animal recientemente sacrificado en un medio nutritivo adecuado. Dependiendo de la composición del medio empleado podemos conseguir la

25.



- multiplicación de las células o solamente su supervivencia. En el primer caso podemos hacer una siembra de un número de células poco abundante y esperar a que estas células se multipliquen utilizándolas en ese momento o por el contrario si no nos interesa que las células aumenten de número, podemos sembrar en el primer momento un gran número de células (aproximadamente equivalente al que obtenemos al final de la multiplicación del primer caso) siendo de esta forma utilizadas desde el primer momento. Trasladando estos conceptos al caso concreto del cultivo de un virus, en el primer caso inocularíamos el virus sobre las células al final del período de multiplicación y en el segundo podemos realizar la siembra desde el primer momento.

- Las células de los cultivos primarios tienen exactamente las mismas características que las células del animal vivo pues proceden directamente de él. Esto motiva dos tipos de consideraciones en lo que al empleo de los cultivos primarios para la producción de virus se refiere. Por un lado las células cultivadas "in vitro" nos reportan varias ventajas sobre el empleo de animales como por ejemplo: siendo igualmente susceptibles al virus, son más fácilmente asequibles a él; no reaccionan como lo hace el organismo completo (fiebre, anticuerpos etc.); son fácilmente controlados y manejados; no presentan particularidades individuales tan acusadas; etc. Sin embargo por otro lado pueden tener



alguno de los inconvenientes del animal vivo. Nos referimos fundamentalmente al hecho de que las células pueden estar contaminadas con virus que vivían en forma latente en el animal del cual proceden y transmitirlos. También es imposible
5. obtener siempre células de animales exactamente iguales en edad, tamaño, raza, susceptibilidad, etc. etc.

La transmisión de virus en estado latente puede evitarse en gran parte empleando cultivos primarios de células que siendo susceptibles al virus procedan de una especie
10. totalmente diferente a la que va dirigida la vacuna que trata de producirse. Aquí el problema sería el hecho de encontrar unas células que sean susceptibles al crecimiento del virus. En la producción de vacunas contra la PPC se emplean tres grupos de animales para obtener cultivos celulares primarios:
15. cerdos, conejos y rumiantes.

Si las células procedentes de un cultivo primario se subcultivan seriadamente en la mayoría de las ocasiones, dejan de multiplicarse y mueren entre el segundo y décimo
20. pase. Sin embargo, en algunas ocasiones ocurre un hecho curioso. Después de un número dado de pases (generalmente a partir del quinto) la velocidad de crecimiento desciende y en los pases sucesivos cada vez se produce menor cantidad de células viables. Pero en un momento imprevisto pueden
25. aparecer pequeños grupos de células que tienen una morfología



- gía diferente del cultivo primario. Estas "nuevas" células son a menudo capaces de cultivo continuo y pueden sufrir pases sucesivos indefinidamente quedando constituida lo que se denomina una "línea celular". Actualmente se admite como línea celular establecida aquella que ha sufrido por lo menos setenta subcultivos con intervalos de tres días entre cada subcultivo. Las células de una línea celular no proceden de la selección de un tipo especial de células presentes en un cultivo primario; son morfológicamente diferentes de sus células antecesoras; parecen tener una capacidad de supervivencia ilimitada; nunca vuelven a recobrar su tipo original; se muestran diferentes en cuanto a la susceptibilidad a los virus comparados con los cultivos primarios.
5. 10.

- Este tipo de células presentan ciertas ventajas sobre los cultivos celulares primarios: No se necesita recurrir constantemente al sacrificio de animales. Al poderse cultivar indefinidamente pueden mantenerse siempre grandes stocks de células de morfología y comportamiento uniforme y estable por lo que es posible trabajar con un sistema estandarizado. En los medios de cultivo no es necesario emplear productos biológicos de composición química indefinida, con lo que se evitan los riesgos de provocar fenómenos alérgicos y anafilócticos. Presentan mayor susceptibilidad a los virus que las células originales y por el contrario en ningún caso pueden transmitir virus latentes homólogos o heterólogos.
15. 20. 25.



- En particular el invento se refiere al procedimiento de producción de una vacuna atenuada para inmunizar cerdos contra la PPC que consiste en mantener una línea celular en cultivo continuo en cantidades suficientemente grandes como
5. para producir una vacuna a escala comercial, en un momento predeterminado hacer un inoculum de virus vivo de la PPC previamente modificado y atenuado, sobre estas células; permitir al virus multiplicarse durante un período de tres a ocho días y congelar los líquidos de cultivo a una temperatura de -40°
 10. C, para conservarlos el tiempo necesario. Descongelar, separar las células y mezclar con una solución estabilizante. Una vez liofilizada esta mezcla obtenemos un agente inmunizante a base de virus vivo de la PPC atenuado y estabilizado que inoculado en cerdos les protege contra un ataque natural de
 15. la enfermedad.



N O T A

Descrito el objeto del presente invento se declaran como nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones:

5. 1.- Un procedimiento de producción de una vacuna atenuada para inmunizar cerdos contra la Peste Porcina Clásica caracterizado porque células vivas pertenecientes a una línea celular susceptible al virus de la peste porcina, colocadas en un medio nutritivo adecuado se inoculan con virus vivo atenuado de la peste porcina clásica, permitiéndose la multiplicación del virus hasta que las células hayan producido una cantidad de virus vivo atenuado suficiente, momento en el que se recogen los líquidos de cultivo que combinados con una solución estabilizante y liofilizados constituyen una vacuna.
10. 15. 2.- Un procedimiento de producción de una vacuna atenuada para inmunizar cerdos contra la peste porcina clásica según la reivindicación 1, caracterizado porque células vivas pertenecientes a una línea celular y productoras de virus de la peste porcina clásica atenuado crecen y se mantienen en suspensión en el medio nutritivo.
- 20.



3.- Un procedimiento de producción de una vacuna atenuada para inmunizar cerdos contra la peste porcina clásica según las reivindicaciones 1 y 2 caracterizado porque células vivas pertenecientes a una línea celular y capaces de producir virus vivo atenuado crecen y se mantienen formando un monoestrato en el recipiente de cultivo.

4.- Un procedimiento de producción de una vacuna atenuada para inmunizar cerdos contra la peste porcina clásica.

10.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 8 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, a 17 NOV. 1967

p. a. JAIME ISERN

Firmado: LUIS REY PADILLA