

MINISTERIO DE INDUSTRIA  
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

IN.-



ESPAÑA

19 ES 1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100

NUMERO	447714
FECHA DE PRESENTACION	7-5-1.976

10 A1

PATENTE DE INVENCION



AY. 1976

60 PRIORIDADES: 61 NUMERO	62 FECHA	63 PAIS
19161/75	7-5-1.975	Inglaterra

64 FECHA DE PUBLICIDAD	65 CLASIFICACION INTERNACIONAL	66 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	A01K	

67 TITULO DE LA INVENCION
UN METODO MEJORADO PARA LA PRODUCCION DE CARNE

68 SOLICITANTE (S)
UNILEVER N.V

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
Burgemeester s'Jacobplein 1, Rotterdam, Holanda

69 INVENTOR (ES)
JOHN WILLIAM CHIDLOW y PHILIP PORTER, ambos de nacionalidad británica, los cuales han cedido sus derechos a la Cía. solicitante.

70 TITULAR (ES)
El mismo solicitante

71 REPRESENTANTE
DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU



1 .. Esta invención se refiere al tratamiento de animales y  
consiste en suministrar al animal un régimen que mejora su  
salud.

5 La mortalidad entre los animales inmediatamente des-  
pués del parto y entre los recién nacidos es alta: así, alre-  
dedor del 20 % de los cerdos no sobreviven a la primera sema-  
na de vida y alrededor de la mitad de ese número muere a cau-  
sa de trastornos gastrointestinales debidos en gran parte a  
10 infecciones con cepas patógenas de una o más bacterias. Tam-  
bién los trastornos gastrointestinales producen una gran ten-  
sión sobre los animales que sobreviven y contribuye a un de-  
sarrollo lento y a un escaso aumento de peso. En la cría de  
animales, esto es causa de una considerable pérdida de bene-  
ficios, por ejemplo en carne.

15 Esta resistencia que los recién nacidos tienen a las  
infecciones bacterianas a las que están expuestos durante el  
nacimiento o inmediatamente después es adquirida de las ma-  
dres. Esta protección (conocida como protección inmune pa-  
siva, debido a que los anticuerpos que protegen son recibidos  
20 por el animal joven, no generados por él), en la moderna  
práctica de la cría de animales ha sido sometida a severas  
pruebas. Así, en el caso de los cerdos, es habitual llevar  
las hembras a una pocilga común de partos unos días antes  
del parto. Debido al cambio de ambiente y al trauma del par-  
to, disminuye mucho la resistencia natural de las cerdas  
25 (especialmente de las primerizas) a la infección. En conse-  
cuencia, se multiplican las cepas patógenas de bacterias co-  
mo E. coli que ya están presente, aunque en pequeñas poblaciones, en el  
intestino. Cuando son excretadas estas bacterias patógenas,  
30 los recién nacidos quedan expuestos a la infección por ellas,



1 incluso antes de la primera mamada. Las hembras a punto de  
parir recién llegadas y los cerditos que alumbran a su debi-  
do tiempo, quedan expuestos a una posibilidad creciente de  
5 infección por las bacterias patógenas excretadas por las ma-  
dres y crías que ya se encuentran en la pocilga de partos.

Hemos descrito anteriormente (véase, por ejemplo, la  
patente británica 1.336.015) la administración oral de endo-  
toxinas a animales domésticos para aumentar su resistencia  
a las infecciones gastrointestinales, en especial a las  
10 crías en la fase de destete.

Ahora hemos encontrado que el riesgo de pérdida de la  
salud de los animales y de sus crías puede ser reducido in-  
troduciendo en el intestino del animal, por vía oral, endoto-  
xinas de una bacteria patógena que produce un trastorno gas-  
15 trointestinal.

Por lo tanto, la invención proporciona un método de  
tratamiento de un animal para mejorar su salud y la de sus  
crías, en el que se introducen en el intestino del animal,  
por vía oral, endotoxinas de una bacteria patógena que causa  
20 un trastorno gastrointestinal.

Esta administración oral de endotixinas (puras, en el  
pienso o en el agua de bebida) al animal estimula la produc-  
ción por el intestino del mismo de anticuerpos de los agen-  
tes patógenos y esto da lugar a una marcada reducción de la  
25 cantidad de patógenos excretada, con la consiguiente mejora  
en el ambiente que beneficia a la madre y a sus crías. (En  
el caso de los mamíferos, los antibióticos producidos en el  
calostro y en la leche por administración oral a la madre  
proporciona beneficios adicionales al lactante). Las dosis  
30 mínimas típicas son del orden de 1 a 5 unidades (para la me-



MAY 1976

1 dida de una unidad, véase en particular los ejemplos de la  
patente británica 1.336.015) de endotoxinas de cada cepa pa-  
tógena de bacteria por animal y por día. Un nivel especial-  
mente adecuado para la inclusión en un pienso es de  $10^2$  a  
5  $10^5$  unidades de las endotoxinas de cada patógeno por kg de  
pienso.

Al especificar como "endotoxinas" el material a intro-  
ducir en el intestino, no pretendemos excluir de este mate-  
rial la presencia de exotoxinas o la presencia del material  
10 celular dentro del cual están encerradas las endotoxinas en  
las bacterias vivas; queremos decir simplemente que las endo-  
toxinas son de importancia fundamental en la obtención del  
efecto inmunológico deseado mientras que las exotoxinas y  
los residuos celulares no lo son. Sin embargo, en ocasiones  
15 será conveniente dejar las exotoxinas o los residuos celula-  
res o ambos en asociación con las endotoxinas; en primer lu-  
gar, para ahorrarse la molestia de separarlas y, en segundo  
lugar, para permitir la utilización de la capacidad antigéni-  
ca que puedan poseer. Para actuar eficazmente, es preferible  
20 que las endotoxinas sean libremente asequibles, por ejemplo  
que sean solubles. Las endotoxinas, naturalmente, como se  
indica en la patente británica 1.336.015, deben estar esen-  
cialmente exentas del organismo patógeno vivo.

Es sabido que, por administración de inyecciones paren-  
25 terales de un material antigénico apropiado (esencialmente  
endotoxinas bacterianas) antes del parto, se produce en la  
sangre de la madre un nivel mayor de anticuerpos contra el  
patógeno apropiado. Estos anticuerpos son transferidos a la  
30 cría, por ejemplo por transferencia a través de la placenta  
o por transferencia al calostro y desde allí por absorción a



1 través de la pared gastrointestinal del lactante en la co-  
rriente sanguínea. El cerdo es un ejemplo de animal cuya  
cría adquiere una inmunidad pasiva casi totalmente a través  
del calostro y de la pared gastrointestinal. Aunque sin la  
5 inmunidad pasiva que es adquirida la situación sería mucho  
peor, con frecuencia se ha encontrado que la inmunidad pasi-  
va es inadecuada para luchar con el ambiente altamente infec-  
cioso antes descrito.

Ahora hemos encontrado que la actividad efectiva de  
10 anticuerpos generada en un animal por administración parente-  
ral de endotoxinas de bacterias patógenas puede ser marca-  
damente aumentada mediante la administración oral al animal  
de las endotoxinas antes descritas, ya esté el animal preña-  
do o no. Cuando el animal está preñado (esta es una forma  
15 preferida de esta invención), se produce el consiguiente be-  
neficio tanto a la madre como al recién nacido.

Especialmente en el caso de los mamíferos cuyas crías  
adquieren por lo menos parte de su inmunidad pasiva a través  
del calostro y de la pared gastrointestinal, se ha encontra-  
do el efecto adicional de que la cría adquiere una inmunidad  
20 pasiva mayor. El esfuerzo es especialmente importante para  
aquellos mamíferos, como el cerdo, la vaca y la oveja, donde  
prácticamente toda la inmunidad pasiva de la cría es adqui-  
rida a través del calostro y de la pared gastrointestinal.

25 Así, de acuerdo con un aspecto especialmente importan-  
te de esta invención, las endotoxinas de una bacteria patóge-  
na contra la que se desea conseguir una buena protección son  
repetidamente administradas por vía oral (es decir, son intro-  
ducidas en el intestino a través de la boca) a un animal pre-  
30 ñado cuya cría adquiere por lo menos parte de su inmunidad



MAY 1976

1 pasiva a través del calostro y, hacia el final del periodo de gestación, las endotoxinas también son administradas al animal por vía parenteral.

5 Si el animal preñado es una cerda, los enteropatógenos notables contra los que con frecuencia se desea conseguir una buena protección son uno o más de los serotipos de E. coli que contienen las endotoxinas 08, 045, 0138, 0139, 0141, 0147, 0149 o 0157 o Clostridium welchii o Vibrio coli. Si el animal es una vaca, los enteropatógenos notables son los serotipos de E. coli que contienen las endotoxinas 08, 10 09, 015, 026, 078, 086, 0114, 0115, 0137 o 139, o Salmonella dublin o typhimurium. Si el animal es una oveja, los enteropatógenos notables son cualesquiera de los ya citados, o un serotipo de E. coli que contiene la endotoxina 020. (En el 15 caso de las vacas u ovejas preñadas, si se desea el material antigénico puede ser protegido de la posible degradación en el rumen, quedando todavía disponible para ser absorbido en el intestino delgado: véase Phillipson, Proc. Nutr. Soc. (1972) 31, 159).

20 Cuando la administración se realiza por inyección y por vía oral, se prefiere con mucho inyectar la misma endotoxina que se administra por vía oral.

25 Una característica especial de la forma preferida de esta invención es el hecho de que solamente es necesaria una inyección. Esto se encuentra en marcado contraste con las recomendaciones anteriores de inyecciones parenterales a las madres para comunicar inmunidad pasiva a sus crías. Otra característica importante es que no es necesario que el material inyectado contenga un coadyuvante, tal como una emulsión. 30 Estos coadyuvantes han sido recomendados anteriormente para



MAY 1976

1 garantizar la liberación gradual del material inyectado. En esta invención esto es innecesario e incluso desventajoso.

5 Las llamadas endotoxinas eficaces de los enteropatógenos son estables a 100°C y son convenientemente obtenidas mediante un proceso de esterilización de bacterias que se basa en la calefacción, como se describe en nuestra patente británica 1.336.015. La preparación de piensos que contienen las endotoxinas también se ha descrito allí. Otra técnica está descrita en el Ejemplo 4. Pueden ser importantes otros patógenos distintos de los antes descritos, en especial para 10 otras especies, y en este caso, naturalmente, tienen que ser aisladas y utilizadas las endotoxinas apropiadas.

15 Como se ha explicado antes, la administración oral repetida de endotoxinas al animal estimula al intestino del mismo a producir anticuerpos contra los enteropatógenos y esto da lugar a una marcada disminución de la cantidad de enteropatógenos excretada, con la consiguiente mejora en el ambiente y beneficios para la madre y para el recién nacido. Además, la administración oral prepara el sistema de anticuerpos de la circulación sanguínea, de forma que la respuesta de anticuerpos a una inyección parenteral de las endotoxinas es muy potenciada. Como ya se ha dicho, la administración parenteral de las endotoxinas se realiza hacia el final del periodo de gestación y esto garantiza una gran actividad de anticuerpos durante el periodo de la formación de calostro, que 20 dura aproximadamente los últimos 10 días de la gestación.

25 Preferiblemente la administración parenteral de las endotoxinas se realiza de 15 a 30 días antes de la fecha calculada del parto, después de un curso de administración oral 30 en el que, diariamente o por lo menos en días alternos, las



MAY 1976

1

endotoxinas han sido administradas por vía oral durante las tres semanas precedentes, preferiblemente las cuatro o cinco semanas precedentes, a una dosis de 10-1000 unidades IH (unidades de inhibición de la hemoaglutinación) de las endotoxinas de cada serotipo por animal y por día. Es preferible prolongar la administración oral hasta el momento del parto o todavía más, con objeto de reducir al mínimo la excreción de enteropatógenos.

5

10

Un esquema conveniente es el siguiente (donde S representa la fecha de la concepción):

	cerdos	ganado vacuno	ovejas
Comenzar la administración oral repetida en el periodo	S a (S+30)	S a (S+190)	S a (S+70)
Realizar la administración parenteral en el periodo	(S+85) a (S+100)	(S+255) a (S+270)	(S+115) a (S+130)
Fecha del parto	(S+110) a (S+115)	(S+280) a (S+290)	(S+145) a (S+150)

15

20

Los títulos de anticuerpo en el calostro resultantes de este régimen son inesperadamente altos. El estado inmune pasivo de las crías es muy mejorado en consecuencia y su susceptibilidad a la infección es correspondientemente reducida.

25

Con la inmunización parenteral y oral combinadas del aspecto especial de esta invención, se obtiene la ventaja especial de que, en particular, se produce la clase de anticuerpo IgM en el calostro, por lo menos en el de la cerda, en proporción inesperadamente alta, mientras que un programa normal de inmunización parenteral produce predominantemente la clase de anticuerpo IgG mucho menos eficaz.

30

La invención es ilustrada además mediante los siguientes ejemplos, donde las endotoxinas empleadas son las de



MAY 1976

1 E. coli y han sido obtenidas siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 3A de nuestra patente británica número 1.336.015.

5 EJEMPLO 1

Este ejemplo ilustra el aumento de concentración de anticuerpos en el suero y en el calostro de las hembras del cerdo que se consigue mediante la administración de materia bacteriana antigénica por vía oral y parenteral.

10 Se toman dos grupos iguales de 8 cerdas y las del grupo A se alimentan con un pienso para cerdos que es del tipo normal a excepción de que lleva incluidas las endotoxinas de cada una de las siete cepas patógenas de la bacteria E. coli, teniendo las cepas el serotipo O-antígeno (endotoxinas) 08, 045, 0138, 0139, 0141, 0147 y 0149. Las endotoxinas se utilizan en una proporción de 100 unidades IH (unidades de inhibición de la hemoaglutinación; son convenientemente medidas por el procedimiento descrito en The Veterinary Record (1973) 92, 630-636 o en el Ejemplo 2c de nuestra patente británica 1.336.015) por kg de pienso. Las cerdas del grupo B reciben el pienso normal que no contiene las endotoxinas.

15 Cada grupo de cerdas recibe el pienso particular diariamente, desde el día S + 30 (donde S representa la fecha de concepción) hasta por lo menos el día S + 115.

25 En el día S + 94 cada cerda de cada grupo recibe una inyección parenteral de 3000 unidades IH de las endotoxinas (O-antígeno) de cada uno de los serotipos de E. coli patógeno antes indicados.

30 En los días S + 100 y S + 107 y en el día F + 1 (donde F representa la fecha del parto), se analiza el suero de cada



MAY 1976

1 cerda para determinar su contenido en anticuerpos. Inmediata-  
 mente después del parto, también se toma una muestra de calos-  
 tro en la que se analiza el contenido en anticuerpos; tam-  
 bién se muestrea y analiza la leche en los días F + 1, F + 2,  
 5 etc. Los resultados se encuentran en la siguiente tabla.

CERDAS

Concentración de anticuerpos en unidades PHA

<u>Fecha</u>	<u>Suero</u>		<u>Calostro o leche</u>	
	<u>Grupo A</u>	<u>Grupo B</u>	<u>Grupo A</u>	<u>Grupo B</u>
10 S + 100	640	80		
S + 107	1280	160		
F	1280	160	2560	160
F + 1	1280	80	640	80
F + 2	1280	80	640	80
15 F + 7	640	40	320	40
F + 14	160	40	160	40

EJEMPLO 2

20 En este ejemplo se comparan las concentraciones de anticuerpos en el suero de los cerditos nacidos de madres tratadas y no tratadas.

Los cerditos nacidos de las hembras de los grupos A y B del Ejemplo 1 son amamantados normalmente por sus madres y su sangre se analiza para determinar la concentración de anticuerpos. Se obtuvieron los siguientes resultados:

CERDITOS

Concentración de anticuerpos en unidades PHA en

<u>Fecha</u>	<u>el suero</u>	
	<u>Grupo A</u>	<u>Grupo B</u>
F	0	0
F + 1	2560	80
F + 2	2560	80
F + 7	320	40
30 F + 14	80	10





	<u>Tiempo</u>	<u>Cerditos de las hembras del Grupo A</u>	<u>Cerditos de las hembras del Grupo B</u>
1	0	$10^8$	$10^8$
	5	$10^5$	$10^8$
5	10	$5 \times 10^4$	$5 \times 10^7$
	15	$10^4$	$2 \times 10^7$
	20	$10^3$	$10^7$
	25	$< 10^3$ *	$10^6$
	30	$< 10^3$	$5 \times 10^5$
10	40	$< 10^3$	$10^5$
	50	$< 10^3$	$10^6$
	60	$< 10^3$	$10^7$

\*  $< 10^3$  no puede determinarse.

15 En el Grupo A, de un grupo de 12 cerditos no se produjo ninguna muerte y solamente se produjeron tres casos de hipotermia leve. En el Grupo B (12 cerditos), se produjo una hipotermia leve en 4 cerditos e hipotermia grave y cianosis en 6. De estos 6, 4 murieron al cabo de 3 horas después del ataque.

EJEMPLO 4

Preparación del material de endotoxina

20 Se repitió el procedimiento del Ejemplo 3A de la patente británica 1.336.015, a excepción de que después de producir el cultivo final, se calentó a 60°C durante 30 minutos para liberar las endotoxinas y después se enfrió. A continuación se

25 agregaron 0,5 ml de formalina (40 % de formaldehído) por cada 100 ml de cultivo a cada uno de los cultivos enfriados. Después se combinaron los cultivos que contenían las endotoxinas libres. Los cultivos combinados no se sometieron a ningún nuevo

30 tratamiento térmico.



1976

1

EJEMPLO 5

Unos grupos de cerdas similares a los utilizados en el Ejemplo 1 se trataron de la siguiente forma.

5

Las cerdas del Grupo C se trataron exactamente como las del Grupo A a excepción de que no fueron inyectadas.

Las cerdas del Grupo D se trataron exactamente como las del Grupo B a excepción de que no fueron inyectadas.

En el momento del parto, las concentraciones de anticuerpos en unidades PHA en el calostro fueron:

10

<u>Grupo A</u>	<u>Grupo B</u>	<u>Grupo C</u>	<u>Grupo D</u>
2560	160	80	20-40

Nota. Las características descritas en la pág. 7 línea 25 a pág. 8 línea 8 son todas ellas características preferidas más que necesarias.

15

En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

20

1. Un método mejorado para la producción de carne - que consiste en tratar a un animal preñado con endotoxinas de una bacteria patógena esencialmente exentas de la bacteria patógena viva por introducción en el intestino del animal a través de la boca.

25

2. Un método según la Reivindicación 1, caracterizado porque el animal es un mamífero.

3. Un método según la Reivindicación 1, caracterizado porque las endotoxinas de una bacteria patógena esencialmente exentas de la bacteria patógena viva se administran al animal por vía oral y por vía parenteral.

30

4. Un método según la Reivindicación 3, caracterizado porque el animal está preñado.



MAY. 1976

1

5. Un método según la Reivindicación 4, caracterizado porque el animal es un mamífero.

5

6. Un método según las Reivindicaciones 2 o 5, caracterizado porque el mamífero es un animal cuyas crías adquieren por lo menos parte de su inmunidad pasiva a través del calostro y de la pared gastrointestinal.

10

7. Un método según la Reivindicación 6, caracterizado porque el mamífero es un animal cuyas crías adquieren prácticamente la totalidad de su inmunidad pasiva a través del calostro y de la pared gastrointestinal.

15

8. Un método según la Reivindicación 7, caracterizado porque el animal es una cerda.

9. Un método según la Reivindicación 8, caracterizado porque los enteropatógenos contra los que se obtiene una protección son uno o más de los serotipos de E. coli que contienen las endotoxinas 08, 045, 0138, 0139, 0141, 0149 o 0157 o Clostridium welchii o Vibrio coli.

20

10. Un método según la Reivindicación 7, caracterizado porque el mamífero es una vaca.

11. Un método según la Reivindicación 8, caracterizado porque los enteropatógenos contra los que se obtiene una protección son uno o más de los serotipos de E. coli que contienen las endotoxinas 08, 09, 015, 026, 078, 086, 0114, 0115, 0137 o 0139, o Salmonella dublin o typhimurium.

25

12. Un método según la Reivindicación 7, caracterizado porque el mamífero es una oveja.

30

13. Un método según la Reivindicación 12, caracterizado porque los enteropatógenos contra los que se obtiene una protección son uno o más de los enteropatógenos citados en las Reivindicaciones 9 u 11 o un serotipo de E. coli que con-



1 tiene la endotoxina 020.

14. Un método según cualquiera de las Reivindicaciones 10 a 13, caracterizado porque las endotoxinas son protegidas contra la posible degradación en el rumen.

5 15. Un método según las Reivindicaciones 3 o 5 y cualquier otra reivindicación, caracterizado porque las endotoxinas son administradas por vía parenteral solamente una vez.

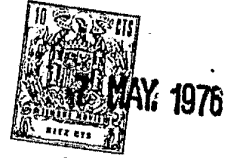
10 16. Un método según la Reivindicación 3 y cualquier otra reivindicación, caracterizado porque la administración parenteral se realiza de 15 a 30 días antes de la fecha estimada del parto.

15 17. Un método según la Reivindicación 3 y cualquier otra reivindicación, caracterizado porque la administración parenteral sigue a un curso de administración oral en el que por lo menos en días alternos se han administrado oralmente las endotoxinas durante las 3 semanas precedentes.

20 18. Un método según cualquiera de las precedentes reivindicaciones, caracterizado porque se administra por vía oral a cada animal por lo menos una unidad al día de endotoxinas de cada cepa patógena de bacteria.

25 19. Un método según la Reivindicación 18, caracterizado porque la administración oral se realiza utilizando un pienso que contiene de  $10^2$  a  $10^5$  unidades de las endotoxinas de cada patógeno por kg de pienso.

30 20. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la patente de invención que se solicita: UN METODO MEJORADO PARA LA PRODUCCION DE CARNE.



1

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de dieciseis páginas mecanografiadas.

5

Madrid, 7 de Mayo de 1.976

BERNARDO UNGRIA

P.P.

A handwritten signature in dark ink, appearing to be "Bernardo Ungria", written over the typed name and "P.P.".

10

15

20

25

30