



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 322 411**

② Número de solicitud: 200600420

⑤ Int. Cl.:
A61K 35/20 (2006.01)
C07K 16/12 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

② Fecha de presentación: **22.02.2006**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **19.06.2009**

④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
19.06.2009

⑦ Solicitante/s:
CORPORACIÓN ALIMENTARIA PEÑASANTA, S.A.
Ctra. de Viella, s/n
33199 Granda-Siero, Asturias, ES

⑦ Inventor/es: **Álvarez Fernández, Ricardo;**
Riera Rodríguez, Francisco;
Álvarez López, Alejandro;
Prieto Martín, José Miguel;
Spi Felgueroso, Alberto;
Argamentería Gutiérrez, Alejandro y
Roza Delgado, Begoña de la

⑦ Agente: **Carpintero López, Francisco**

⑤ Título: **Método para la elaboración de un producto lácteo enriquecido en inmunoglobulinas específicas frente a *Campylobacter jejuni*.**

⑦ Resumen:

Método para la elaboración de un producto lácteo enriquecido en inmunoglobulinas específicas frente a *Campylobacter jejuni*.

En la presente invención se contempla un procedimiento para la obtención de una solución láctea enriquecida en inmunoglobulinas activas específicas frente a *Campylobacter jejuni*, mediante a) la obtención de una vacuna a partir de antígenos procedentes de cepas de este patógeno inactivados térmicamente empleando como adyuvante Hidróxido de Aluminio o adyuvante incompleto de Freud; b) la inmunización de vacas, en cualquier momento de su ciclo reproductivo, mediante la administración progresiva de soluciones de la vacuna obtenida; y c) la obtención de una solución láctea enriquecida en Ig específicas frente a *Campylobacter jejuni* a partir de la leche de las vacas previamente inmunizadas. Asimismo, se contempla la solución láctea así obtenida y su empleo en la elaboración de productos lácteos inmunológicamente activos.

ES 2 322 411 A1

DESCRIPCIÓN

Método para la elaboración de un producto lácteo enriquecido en inmunoglobulinas específicas frente a *Campylobacter jejuni*.

5 **Campo de la invención**

10 La presente invención se refiere a un método para la producción de una solución láctea que contiene factores inmunológicamente activos frente a determinados microorganismos. En concreto, esta invención describe un procedimiento para la obtención de leche, o derivados, enriquecida en inmunoglobulinas específicas frente a *Campylobacter jejuni*, procedente de vacas inmunizadas con cepas de este patógeno, así como el empleo de las soluciones obtenidas en la elaboración de productos lácteos inmunológicamente activos.

15 **Antecedentes de la invención**

15 *Campylobacter jejuni* es una de las bacterias que producen más intoxicaciones alimentarias en todo el mundo. Hasta la década de los 70 no se le dio la debida importancia como posible agente patógeno, sin embargo, está demostrado que es responsable de prácticamente el doble de los casos registrados de enteritis que la conocida Salmonella (M.S. Pasternak, Impact and Management of *Campylobacter* in human medicine - US perspective. *International Journal of Infections Diseases*, 6, 3, December 2002, 37-43).

20 El *Campylobacter jejuni* es capaz de vivir en los intestinos de las aves sin producirles enfermedad alguna, mientras que en el ser humano se comporta como un patógeno invasor, siendo el contacto y la ingestión de los animales una de las vías de infección más frecuentes.

25 La concentración suficiente para causar una infección es muy pequeña y en las últimas dos décadas la incidencia en la intoxicación por esta bacteria ha crecido alarmantemente en los países desarrollados.

30 El síntoma principal de la infección, cuando ésta se produce a través del agua o de los alimentos contaminados, es la diarrea, y otros síntomas son: fiebre, náuseas y dolores abdominales y de cabeza. La enfermedad se manifiesta generalmente entre 2 y 5 días después de haber ingerido la bacteria y sus efectos debilitantes duran unos 10 días.

35 Los métodos actualmente empleados en la prevención y el tratamiento de los desórdenes entéricos en general, se basan en la inclusión de factores inmunológicos de origen lácteo como complemento en productos alimenticios para lactantes y recién nacidos.

40 Así, en la patente US3984539 se define un procedimiento para la obtención de una solución inyectable de inmunoglobulinas (Ig) bovinas para combatir la diarrea producida por determinados patógenos, basado en el aislamiento de Ig procedentes del suero ó plasma bovino mediante procedimientos de fraccionamiento salino. En la solución obtenida se observan cantidades apreciables de Ig frente a diferentes serotipos de *E. coli*.

45 La patente US 4834974 describe el proceso de obtención de una fracción proteica inmunológicamente activa de inmunoglobulinas bovinas a partir de lactosuero empleando tecnologías de membranas. Los concentrados obtenidos se emplean como sustitutivos de calostros para la alimentación de terneros.

50 La patente US 6180099 describe un método para la elaboración de un preparado con un 40-60% en peso de inmunoglobulinas y fibra para mantener la salud gastrointestinal. Las inmunoglobulinas se obtienen a partir de leche, productos lácteos o lactosuero.

55 Las inmunoglobulinas activas, presentes en las formulaciones descritas en estos documentos, no provienen de animales previamente inmunizados, por lo que no están dirigidas contra ningún microorganismo en concreto, sino que emplean los anticuerpos naturalmente contenidos en la leche de los mamíferos.

60 Por otra parte, en la patente US 3992521 se describe un proceso para la obtención de un producto inmune que contiene anticuerpos procedentes del suero de caballos hiperinmunizados a través de la inoculación de antígenos de *Escherichia coli* y Salmonella.

65 La patente US 3128230 describe un método para producir anticuerpos mediante la inyección de una mezcla de microorganismos inactivados térmicamente de *Escherichia coli*, *Streptococcus viridans*, hemolítico y no hemolítico, *Diplococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *albus*, en un mamífero productor de leche y el aislamiento de anticuerpos procedentes del suero o de la leche.

La patente GB 1573995 define un procedimiento para la obtención de un concentrado proteico de inmunoglobulinas que muestran especificidad frente a *Escherichia coli* procedente de la leche de animales hiperinmunizados.

La patente US 4051235 define un método para la preparación de soluciones inmunológicas procedentes del calostro empleadas en el tratamiento del ganado. En este documento se sugiere la estimulación de las vacas antes del parto mediante la inyección de antígenos para la producción de determinados anticuerpos.

La patente EP 0469359 describe una técnica para producir anticuerpos específicos en leche o calostro de vacas inmunizando mamíferos, y la elaboración a partir de esta leche o calostro de una composición farmacéutica que incluya estas inmunoglobulinas no desnaturalizadas, de modo que sean capaces de unirse a *Helicobacter pylori* en el estómago humano.

5

La patente US 6616927 describe una técnica para producir inmunoglobulina A en leche a partir de mamíferos hiperinmunizados por dos vías diferentes (seleccionadas entre intramamaria, intraperitoneal e intramuscular) y su inclusión en formulaciones para proporcionar inmunidad pasiva contra ciertos tipos de patógenos.

10

Se conocen por tanto formulaciones diversas que contienen altos niveles de anticuerpos específicos frente a diferentes patógenos, que pueden ser empleados para el tratamiento de lactantes con desordenes entéricos, así como para el tratamiento de pacientes inmunodeprimidos, pero no se conoce ninguna a partir de leche de vaca enriquecida en IgG específicas frente a *Campylobacter jejuni*.

15

En general los tratamientos existentes frente a *C. jejuni* describen el empleo de factores inmunológicos de origen lácteo como complemento en productos alimenticios para lactantes y recién nacidos.

20

Así, en la patente US 6202546 se describe la preparación de un producto de origen lácteo compuesto por leche a la que se añade un concentrado proteico que contiene inmunoglobulinas, elaborado a partir de calostro de vacas inmunizadas frente a una serie de patógenos que afectan al ser humano, entre los que se nombra a *C. jejuni*.

25

Esta patente describe un procedimiento para reducir la carga microbiana del citado calostro por medio de procesos de centrifugación y procesos de concentración. El calostro esterilizado y concentrado se adiciona a la leche tras su proceso de pasteurización, dando lugar a un producto compuesto de origen lácteo. Este documento no describe ninguna fórmula de obtención del calostro hiperinmune, sino que simplemente sugiere que se podría obtener inmunizando a cualquier mamífero con los citados microorganismos, sin describir ningún protocolo para la realización de este procedimiento.

30

A la luz de estos documentos, se demuestra la falta de un proceso de inmunización que tenga como resultado final la obtención de leche procedente directamente de la vaca que contenga Inmunoglobulinas con actividad específica frente a *Campylobacter jejuni*.

35

Por otra parte, en todos los procedimientos descritos, la inmunización del vacuno se realiza siempre en estadios finales del ciclo reproductivo del ganado, dos semanas antes del parto, en donde, debido a la fisiología del animal, las posibilidades de que aparezcan Ig activas son mayores.

40

Sin embargo, los presentes autores, a través de sus investigaciones, han demostrado que el ganado vacuno puede generar anticuerpos específicos contra *Campylobacter jejuni*. Así, en base a las necesidades del actual estado de la técnica, han desarrollado un procedimiento de inmunización de vacas para la obtención de leche enriquecida en IgG específicas frente a *Campylobacter jejuni*, que sorprendentemente, puede ser implementado en cualquier momento del ciclo de lactación, ya que las Ig aparecen activas en la leche producida durante todo el ciclo, y no solamente en los primeros días calostrales.

45

Así, en esta invención, los autores describen, a diferencia de los productos compuestos inmunológicamente activos del estado de la técnica, una leche con la misma composición que la leche producida por una vaca sin inmunizar (grasa, azúcares, minerales y proteínas), pero enriquecida con una fracción de inmunoglobulinas con actividad específica frente a *Campylobacter jejuni*, que se mantienen activas incluso tras ser sometidas a los procesos tecnológicos obligatorios en la industria láctea, así como los productos lácteos que con esa leche puedan elaborarse.

50

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Evolución de los anticuerpos circulantes del tipo IgG en suero frente a *Campylobacter jejuni* a lo largo del tratamiento en las cuatro vacas sometidas a estudio.

55

Figura 2. Evolución de las IgG específicas frente a *Campylobacter jejuni* en leche en las cuatro vacas sometidas a estudio.

60

Figura 3: Valores de actividad específica frente a *Campylobacter jejuni* tras tratamiento térmico • Experimentos a escala de laboratorio. □ Experimentos en planta piloto.

Objeto de la invención

65

El objeto principal de la presente invención es proporcionar un procedimiento para la obtención de una solución láctea enriquecida en inmunoglobulinas activas específicas frente a *Campylobacter jejuni*, mediante la inmunización de vacas con cepas de este patógeno inactivadas térmicamente, en cualquier momento de su ciclo reproductivo.

Otro objeto de la invención es proporcionar la solución láctea enriquecida en Ig específicas frente a *Campylobacter jejuni* obtenida según dicho procedimiento.

ES 2 322 411 A1

Finalmente, la presente invención tiene como objeto el empleo de dicha solución láctea en la elaboración de productos lácteos inmunológicamente activos.

Descripción de la invención

Un aspecto principal de la invención contempla un procedimiento para la obtención de una solución láctea enriquecida en inmunoglobulinas activas específicas frente a *Campylobacter jejuni*.

Este procedimiento se lleva a cabo mediante:

- a) la obtención de una vacuna a partir de antígenos procedentes de cepas de *Campylobacter jejuni* inactivados térmicamente empleando un adyuvante seleccionado entre Hidróxido de Aluminio y adyuvante incompleto de Freud;
- b) la inmunización de vacas, en cualquier momento de su ciclo reproductivo, mediante la administración progresiva de soluciones de la vacuna obtenida en a); y
- c) la obtención de una solución láctea enriquecida en Ig específicas frente a *Campylobacter jejuni* a partir de la leche de las vacas inmunizadas en b).

En una realización preferente de la invención, el adyuvante empleado es el Hidróxido de Aluminio.

En diferentes realizaciones particulares de la invención, la solución láctea obtenida en la etapa c) puede proceder del calostro, del lactosuero resultante de la precipitación enzimática de las caseínas ó del lactosuero resultante de la precipitación ácida de las caseínas.

Las posibilidades de aparición de las Ig en el calostro, concretamente de las IgG₁, son bastante grandes ya que en esos días pos-parto la fisiología del ganado está preparada precisamente para la transmisión de la carga inmunológica al ternero. Sin embargo, en la presente invención esto sigue sucediendo durante el resto del ciclo (no necesariamente en el periodo post-parto) a pasar de los cambios que se producen en el ganado.

En otro aspecto principal de la invención se contempla una solución láctea enriquecida en Ig específicas frente a *Campylobacter jejuni* obtenida según el procedimiento descrito.

Dicha solución láctea puede ser tanto la leche directamente obtenida de la vaca, como concentrados proteicos de dicha leche ó cualquier otro derivado.

En otro aspecto principal de la invención se contempla el empleo de dicha solución en la elaboración de productos lácteos (sólidos y líquidos) inmunológicamente activos frente a *Campylobacter jejuni*, entre los que se incluyen la leche en general y derivados lácteos y, en particular, leche fresca, leche calostrual, leche pasteurizada, yogur, concentrados de proteínas, aislados de proteínas, permeados de ultrafiltración de leche y de sueros lácteos, derivados en polvo, etc.

Las inmunoglobulinas específicas frente a *Campylobacter jejuni* presentes en la leche, pueden sufrir pérdidas de actividad específica debido a los tratamientos a los que la leche es sometida durante su procesado en la industria. Sin embargo, en la presente invención, la actividad de las inmunoglobulinas se mantiene prácticamente intacta cuando el producto se somete a condiciones de pasteurización clásica (figura 3) y a otros procesos tecnológicos realizados (algunos de ellos obligatorios para la industria, como centrifugaciones, bombeos y transportes, etc.).

Por lo tanto, la incorporación de estas Igs ó concentrados de las mismas en productos lácteos pasteurizados supone un plus de valor del producto en el mercado, independientemente de que la metodología utilizada permita aislar concentrados de Igs que puedan incorporarse a otros productos más específicos (dietas infantiles, leches de primeras lactaciones, leches maternizadas, etc.).

De esta manera, en una realización preferida de la invención se contempla el empleo de la solución láctea, obtenida mediante el procedimiento de la presente invención, en la elaboración de productos lácteos pasteurizados inmunológicamente activos frente a *Campylobacter jejuni*.

A continuación presentamos a modo de ejemplo, sin que se considere limitativo un ejemplo de realización de la presente invención:

Ejemplo 1

Obtención del inmunógeno

Se partió de una cepa comercial de *Campylobacter jejuni* ATCC 33291. Se tomaron 5 ml de medio líquido Bolton broth y se precalentó a 37°C. Se introdujo un asa con la bacteria liofilizada en el medio precalentado y se dejó rehidratar la película protectora que contiene la bacteria permitiendo que se resuspendiera en el medio líquido. Se sembraron

los 5 ml de medio en 200 ml de medio Bolton. Se incubaron en un incubador orbital durante 48 horas a 42°C y 150 rpm en una jarra de anaerobiosis en la que se había generado una atmósfera idónea para el crecimiento de microorganismos microaerófilos. Transcurridas 48 horas, se observó turbidez en el medio, indicador de crecimiento del microorganismo. Se sembró en placas de petri con medio Blood Free Campylobacter Agar. Se incubó en jarras con atmósfera microaerófila durante 48 horas sin agitación. Transcurrido ese tiempo, se recogieron las células de las placas. Para verificar la ausencia de contaminación se realizó una tinción de Gram y se identificaron las colonias mediante un kit de diagnóstico comercial (api- Campylobacter®). Se recuperaron las células de las placas arrastrándolas con PBS y un asa de vidrio curvada. Se inactivó la suspensión celular calentando a 60°C durante 1 hora y a continuación se añadió formol hasta una concentración final de 0.02 M. Seguidamente se centrifugó la suspensión a 10.000 g, 30 min., 4°C. Se decantó y descartó el sobrenadante. Se resuspendió el pellet en un volumen de PBS igual a la mitad del volumen inicial. Se centrifugó en las mismas condiciones y se repitió el proceso. Tras tres etapas de lavado, se pesó el pellet y se resuspendió en 10 ml. de PBS. Este concentrado de bacterias inactivadas se utilizó para la obtención de la vacuna.

Protocolo de vacunación

Se escogieron vacas frisonas de dos años de edad en segunda lactación para proceder a la inmunización con *C. jejuni*. El inmunógeno empleado fue el descrito anteriormente a una concentración de 25 mg por cada una de las vacas inoculadas, mezclado con el adyuvante hidróxido de aluminio al 50% siendo el volumen final de 10 ml. Se inoculó por vía intramuscular, en las tablas del cuello, con periodicidad semanal. Previo a la inmunización, se tomaron muestras de sangre y leche como controles.

Se repitió este tratamiento 5 veces espaciado 7 días. 14 días más tarde del último refuerzo (semana 7), se realizó una inoculación final por vía intravenosa. El cuadro adjunto resume el protocolo de inoculación:

| Semana 1 | Semana 2 | Semana 3 | Semana 4 | Semana 5 | Semana 6 | Semana 7 |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| IM | IM | IM | IM | IM | | IV |

IM: intramuscular. IV: intravenosa

Caracterización de anticuerpos en leche

El sistema de detección de anticuerpos frente a *C. jejuni*, para IgG, fue mediante una técnica ELISA. Para su realización se emplearon placas de EIA de 96 pocillos, de fondo plano de alta adherencia. Se tapizaron con un antígeno que consistió en una suspensión de bacterias en un buffer carbonato-bicarbonato 0,06 M, a una concentración de 25 mg/ml. El antígeno fue obtenido mediante un proceso en autoclave de 30 minutos a 121°C, posteriormente se centrifugó y el sobrenadante se utilizó para sensibilizar la placa. Para su titulación se ensayaron diferentes diluciones en base dos, mostrándose la dilución 1/400 la más adecuada, el la que se encontró las mayores diferencias de densidad óptica (DO) entre los sueros controles positivos y negativos. Las placas se dejaron 18 horas a 4°C y posteriormente se lavaron tres veces con una solución de PBS-Tween 20 al 0.05%. Se empleó como solución de bloqueo un extracto de levadura al 1% en PBS adicionada simultáneamente con el suero a la dilución de 1/50. Se incubaron a 37°C durante 1 hora y se lavaron 5 veces con PBS-Tween 0.05%. Como anticuerpo secundario se empleó un antisuero anti IgG de bovino obtenido en conejo y conjugado con peroxidasa (Pierce) a una dilución de 1/10.000. Se incubaron una hora a 37°C y se lavaron 5 veces con PBS-Tween 0.05%. Como revelado se empleó OPD (Sigma), siendo la reacción frenada con H₂SO₄ 3N a los cinco minutos. Se leyó la absorbancia de la placa a 450 nm en un espectrofotómetro (Bio Rad).

Así, se comprobó que este tratamiento incrementa la cantidad de anticuerpos circulantes específicos frente a *Campylobacter jejuni* en suero sanguíneo (figura 1) y hace que aparezcan en suero lácteo (figura 2).

La figura 1 muestra la evolución de IgG circulantes en sangre específicas frente a *Campylobacter jejuni*. Se observa cómo el tratamiento incrementa la cantidad de anticuerpos del tipo IgG, duplicando la señal respecto de la inicial en el momento de máxima efectividad del tratamiento, al cabo de tres o cuatro semanas.

En suero lácteo el efecto del tratamiento es aún más acusado, como se puede ver en la figura 2, siendo el valor en el máximo de actividad, alcanzado a las cinco-seis semanas, siete veces superior al existente antes de iniciar el tratamiento. En ambos casos (figura 1 y 2), se observa un repunte de la actividad como resultado del refuerzo intravenoso inyectado en la semana siete, observándose un nuevo máximo en la semana ocho.

Caracterización de la estabilidad térmica de las inmunoglobulinas específicas frente a Campylobacter jejuni

Para observar el efecto que la temperatura tiene sobre la actividad específica de las inmunoglobulinas, se realizaron una serie de tratamientos térmicos. Se escogieron combinaciones de tiempos y temperaturas en el entorno de las condiciones de pasteurización y esterilización utilizadas en la industria láctea. La figura 3 muestra los valores de actividad específica frente a *Campylobacter jejuni* tras el citado tratamiento térmico.

ES 2 322 411 A1

Los porcentajes reflejados al lado de cada punto experimental, representan la actividad específica resultante tras el tratamiento, medida mediante ELISA, respecto a la de la leche cruda, según la siguiente fórmula:

5

$$\%actividad = \left(\frac{A_t}{A_0} \right) \cdot 100$$

10 Siendo A_t la densidad óptica medida a 450 nm, con 620 nm de referencia de la muestra sometida a cada una de las combinaciones de tiempo temperatura, y A_0 la densidad óptica medida en las mismas condiciones de la muestra cruda. Las líneas representan inactivación del cien por cien de microorganismos y enzimas, y se emplean para verificar la eficiencia de pasteurización. Son, de izquierda a derecha: inactivación de *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, línea de nata, Fosfatasa y peroxidasa.

15 Así, se muestra la actividad específica residual tras la combinación de tiempo/temperatura a la que ha sido sometido. Los tratamientos identificados como □ se realizaron en un pasteurizador piloto con un método de calentamiento indirecto. Los reseñados como ● se realizaron a escala de laboratorio en tubos de ensayo y un baño termostático. Se observó que los tratamientos a temperaturas superiores a 90°C hacen que la proteína pierda por completo su actividad específica. A temperaturas inferiores, muestran actividad las muestras sometidas a esa temperatura durante intervalos de tiempo cortos. A temperaturas inferiores a 70°C se observó que la actividad específica se conserva inalterada.

20 La figura 3 demuestra, por tanto, que la actividad de las inmunoglobulinas se mantiene prácticamente intacta cuando el producto se somete a condiciones de pasteurización clásica, teniendo una mayor influencia en la desactivación de las Igs la temperatura que el tiempo de tratamiento.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Procedimiento para la obtención de una solución láctea enriquecida en inmunoglobulinas activas específicas frente a *Campylobacter jejuni* que comprende:

a) obtención de una vacuna a partir de antígenos procedentes de cepas de *Campylobacter jejuni* inactivadas térmicamente empleando un adyuvante seleccionado entre Hidróxido de Aluminio y adyuvante incompleto de Freud;

10 b) inmunización de vacas, en cualquier momento de su ciclo reproductivo, mediante la administración progresiva de soluciones de la vacuna obtenida en a); y

15 c) obtención de una solución láctea enriquecida en Ig específicas frente a *Campylobacter jejuni* a partir de la leche de las vacas inmunizadas en b).

2. Procedimiento según la reivindicación 1 **caracterizado** porque el adyuvante empleado en a) es Hidróxido de Aluminio.

20 3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 **caracterizado** porque la solución láctea obtenida en c) procede del calostro.

4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 **caracterizado** porque la solución láctea obtenida en c) procede del lactosuero resultante de la precipitación enzimática de las caseínas.

25 5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 **caracterizado** porque la solución láctea obtenida en c) procede del lactosuero resultante de la precipitación ácida de las caseínas.

30 6. Solución láctea enriquecida en Ig específicas frente a *Campylobacter jejuni* obtenida según cualquiera de las reivindicaciones 1-5.

7. Empleo de una solución láctea, según la reivindicación 6, en la elaboración de productos lácteos inmunológicamente activos frente a *Campylobacter jejuni*.

35 8. Empleo de una solución láctea, según la reivindicación 7, en la elaboración de productos lácteos pasteurizados inmunológicamente activos frente a *Campylobacter jejuni*.

40

45

50

55

60

65

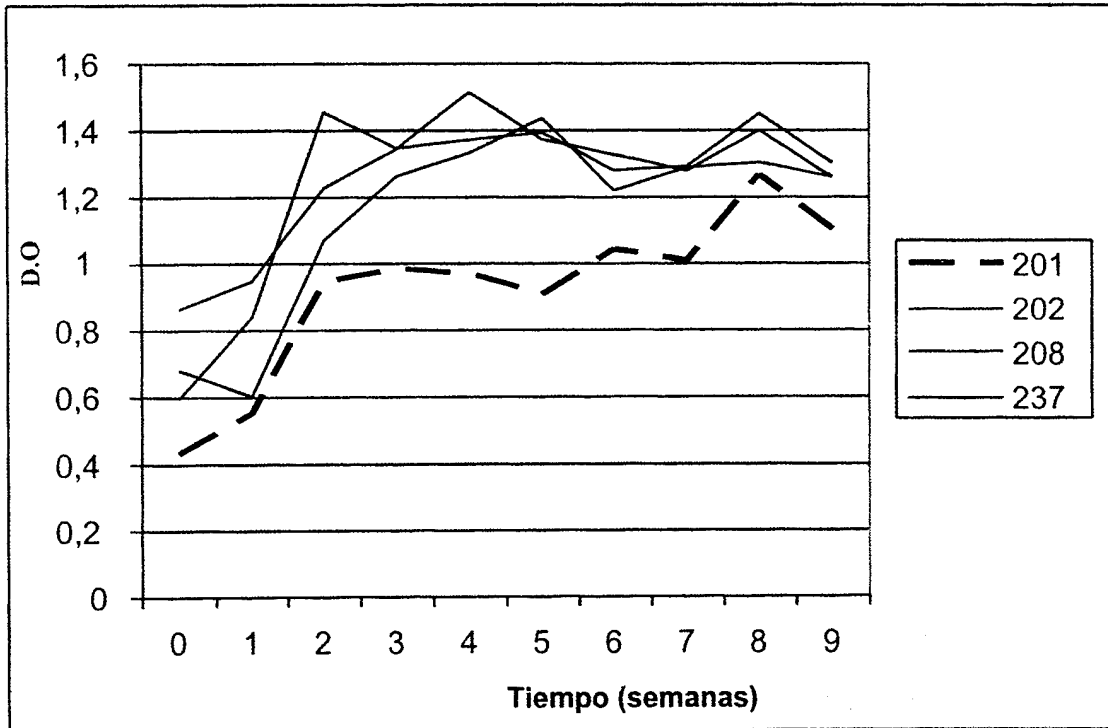


FIGURA 1

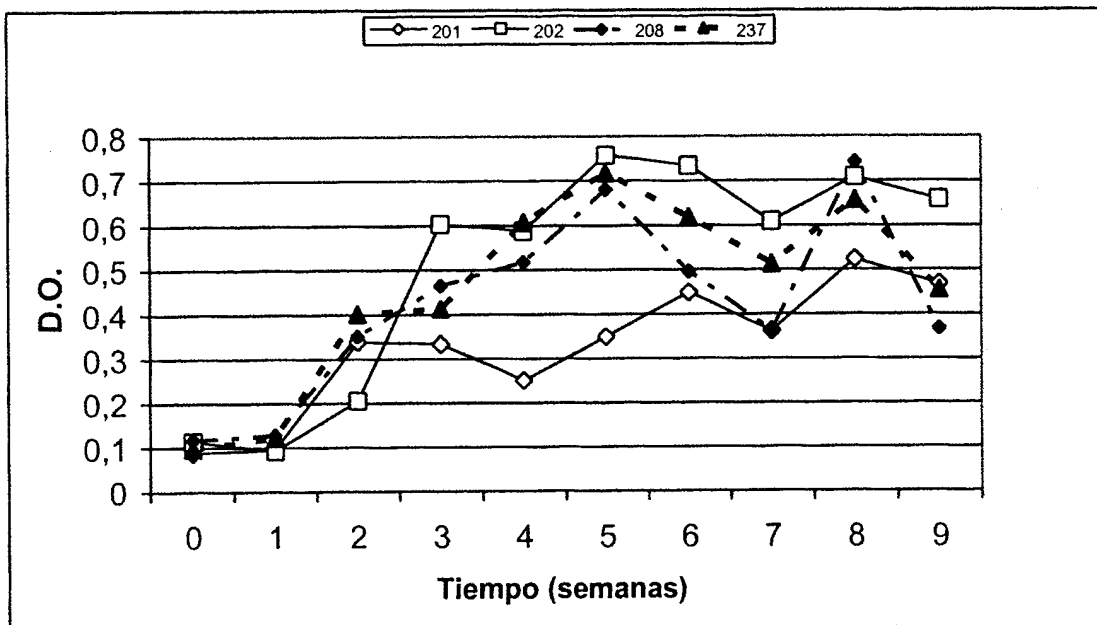


FIGURA 2

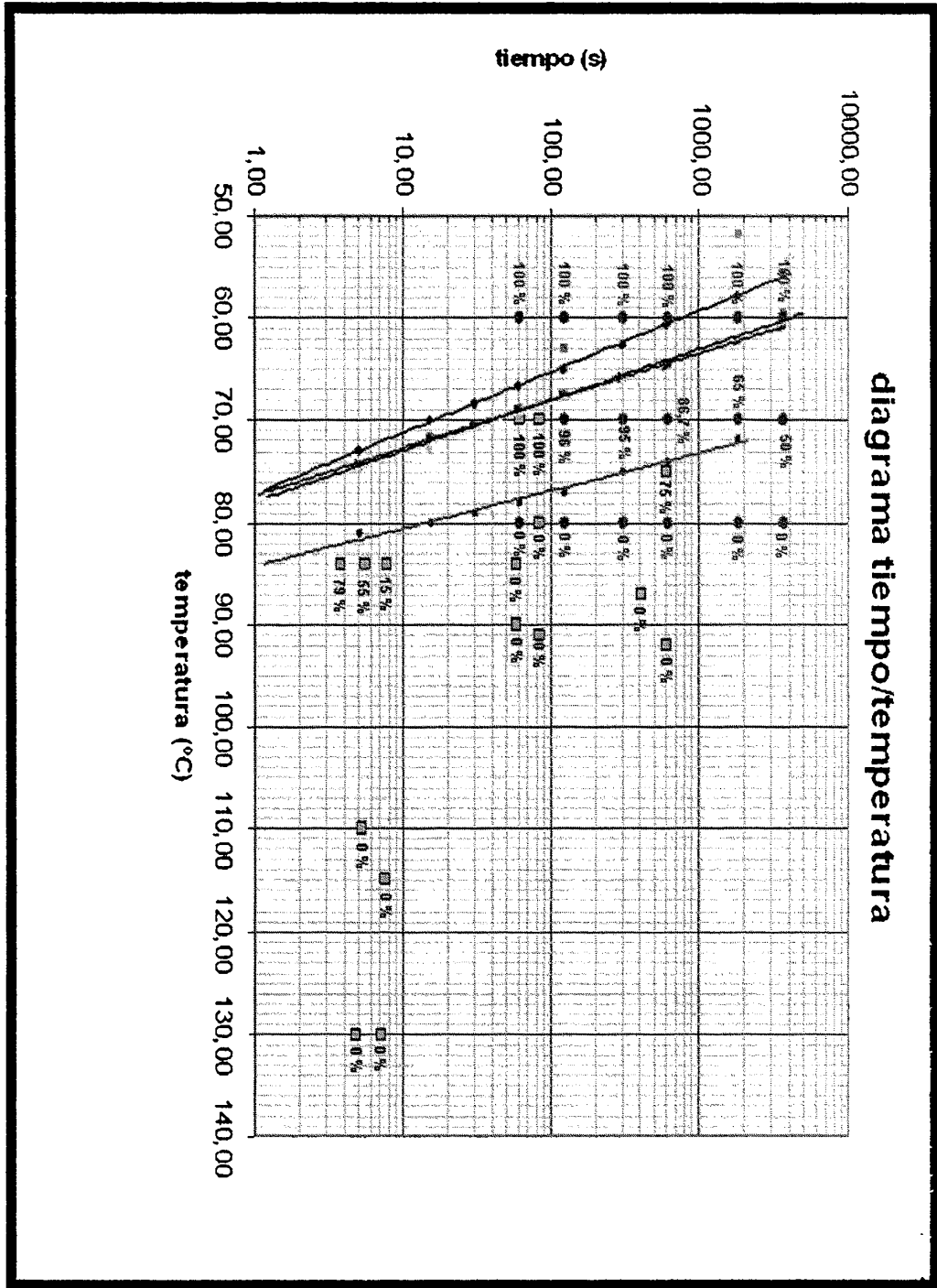


FIGURA 3



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 322 411

② Nº de solicitud: 200600420

③ Fecha de presentación de la solicitud: **22.02.2006**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **A61K 35/20** (2006.01)
C07K 16/12 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | ⑥ Documentos citados | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|---|----------------------------|
| X | HUSU, J. et al. Production of Hyperimmune Bovine Colostrum Against Campylobacter Jejuni. Journal of Applied Bacteriology. 1993, Vol. 74, Núm. 5, páginas 564-569. página 564, columna 2, figura 1, página 568 columna 2, párrafo 2; columna 3, párrafo 3; | 1-3, 6,7 |
| Y | | 4,5, 8 |
| Y | US 4971794 A (LINGGOOD et al.) 20.11.1990, columna 2, líneas 14-21; columna 3, línea 23-49; columna 5, líneas 14-16; líneas 27-31; líneas 39-43; columna 12, ejemplo 6. | 4,5 |
| Y | Ando, L. et al. Effects of whey preparation processes and heat treatment on bovine colostrum antibody activity. Milchwissenschaft, 2005 Vol.60, páginas 67-71. Todo el documento. | 8 |

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
29.05.2009

Examinador
N. Urquía Fernández

Página
1/1