

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 457 080**

51 Int. Cl.:

C12N 11/04 (2006.01)

A23K 1/00 (2006.01)

A23K 1/16 (2006.01)

A23D 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.06.2005 E 05012351 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.01.2014 EP 1690931**

54 Título: **Procedimiento de administración de un producto que contiene organismos vivos**

30 Prioridad:

10.02.2005 US 55433

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

24.04.2014

73 Titular/es:

**WATSON, JAMES B. (100.0%)
ROUTE 1, BOX 503
PIERCE, NEBRASKA 68767, US**

72 Inventor/es:

WATSON, JAMES B.

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 457 080 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de administración de un producto que contiene organismos vivos

- 5 Esta invención, que se define por el procedimiento de las reivindicaciones, se refiere a un producto que contiene un organismo latente y, más especialmente, a un producto que contiene organismos latentes vivos en el que dichos organismos vivos, que están en estado latente, se suspenden en un vehículo o medio fluido líquido que puede ser fácilmente bombeado y se mantendrá en suspensión durante toda la vida del producto. Más en particular, el vehículo, mientras se encuentra en estado líquido, está libre de humedad para evitar que los organismos se activen
- 10 hasta que el producto se aplique a piensos, forrajes o directamente sobre los animales o similares. En lo sucesivo, los piensos, forrajes, animales o similares se denominarán «el huésped objetivo».

Las formulaciones de bacterias vivas se aplican frecuentemente a productos de forraje, piensos, etc., para potenciar la fermentación y/o la digestión. Los productos previos en la técnica se incluyen generalmente dentro de dos

15 categorías que son en forma en polvo soluble seca o en forma no soluble granular seca. Los productos granulares secos se aplican directamente al huésped objetivo mediante un dispositivo de dosificación como una caja Gandy, habitualmente a una tasa de 110 a 450 g (4 a 16 onzas) por tonelada de forraje tratado. Los productos solubles secos deben hidratarse primero con agua y, a continuación, aplicarse al huésped objetivo durante un periodo de tiempo de 48 h poshidratación realizando la aplicación mediante un sistema de bomba para líquidos a una tasa de

20 37 gramos en 3,8 l (1 galón) por tonelada de forraje.

Los productos granulares secos de la técnica previa, incluso si están envasados en cubos de plástico, entrarán en ocasiones en contacto directo con el aire del ambiente durante su fabricación y procesamiento o simplemente tras la apertura de la tapa del producto con el contenido de agua o humedad de aire. El contenido de agua o humedad en el

25 aire activará a la bacteria latente tras el contacto lo que, a su vez, hará que las bacterias vivan y mueran inadvertidamente antes de que estas se puedan aplicar al forraje. Por tanto, el valor del producto se perderá por completo. Los vehículos de caliza de los productos de la técnica previa serán portadores de trazas mínimas de humedad y dicha humedad reduce en gran medida la capacidad del producto para mantener una vida útil adecuada. Si el producto de la técnica previa es un producto en polvo soluble, también será necesaria su hidratación antes de

30 la aplicación. La hidratación activa inmediatamente todas las bacterias latentes y el productor tiene que aplicar la mezcla en su totalidad en un margen de tiempo de 48 horas o antes ya que las bacterias agotarán de forma natural su fuente de alimento y morirán, lo que generará la pérdida total del valor del producto.

Además, los productos previos de la técnica actualmente en el mercado deben extraerse de su recipiente de envío

35 original o verterse físicamente dentro de un aplicador seco antes de su aplicación, o deben estar contaminados con agua, lo que reduce su vida útil a menos de 48 horas tras la contaminación. Adicionalmente, los productos granulares secos de la técnica previa tienen tendencia a ordenarse durante el envío. Esto desprende algunos finos del fondo del recipiente de envío dejando que el material más grande o ligero vaya hacia la parte de arriba. Puesto que las bacterias se adhieren a estas partículas, también pueden migrar con ellas. Otros productos solubles en polvo

40 secos pueden asentarse en el fondo de tanque aplicador tras su hidratación. Esto dependerá en gran medida del factor de dilución del producto. Puesto que las tasas de aplicación disminuyen para cubrir las necesidades actuales del productor de llevar menos producto al campo, los fabricantes deben hacer sus productos a su vez más condensados para cubrir estas necesidades. Esto limita la solubilidad del producto.

45 Los productos granulados secos de la técnica previa requieren que se aplique un porcentaje significativo del producto al material que hace que sea difícil una cobertura homogénea. Durante algún tiempo se ha intentado obtener tasas baja de inclusión con polvos soluble secos mezclados con vehículos acuosos. Sin embargo, estos productos forman gotas con un tamaño molecular y peso muy grandes lo que tiene como resultado que realmente se administran muy pocas gotas por tratamiento, siendo un ejemplo una tonelada de forraje tratado tan solo con diez

50 gotas grandes, de manera que la cobertura no es uniforme.

En el documento WO 93/17094 se describe el uso de microesferas como vehículo para microorganismos, en el que los microorganismos son preferiblemente bacterias. Las microesferas se generan mediante un procedimiento de producción con un plato giratorio, donde las microesferas son expulsadas del disco a alta velocidad de rotación. Se

55 aplica una mezcla de ácido graso líquido y los organismos al plato giratorio para producir las esferas recubiertas que a temperatura ambiente vuelven al estado sólido proporcionando una matriz eficaz. El ácido graso es un ácido esteárico.

En el documento WO 89/07446 se describe un procedimiento para la desecación de organismos biológicos en una suspensión oleosa. Los nematodos, que son parásitos de una o más especies de insectos, se suspenden en un aceite adecuado, que puede ser un aceite vegetal, mineral o sintético. El material biológico también puede ser un virus o una bacteria viable. El agente desecante es un material soporte absorbente de agua.

5

En el documento FR 457 332 se describen microorganismos latentes en un medio anhidro, siendo el medio transportador un aceite vegetal como aceite de oliva, o un ácido graso como margarina. El ácido graso también puede ser un glicérido.

10 En el documento GB 1.151.699 se describe un procedimiento de tratamiento de cultivos bacterianos liofilizados. Los cultivos se incluyen en un medio líquido que contiene un ácido graso saturado, en especial glicéridos que son líquidos a temperatura ambiente.

En el documento WO 92/12639 se describe un procedimiento para suministrar microorganismos a animales en forma liofilizada. Se encontró que los organismos se suspendían en aceite de girasol sin pérdida de viabilidad.

15

Por tanto, es un objeto principal de la invención proporcionar un producto que contenga organismos latentes vivos mejorados que requieran de humedad ambiental para empezar a proliferar.

20 Aún otro objeto de la invención es proporcionar un producto que contenga organismos latentes vivos, que estén en un estado latente, estén suspendidos en un vehículo o medio fluido líquido transparente que pueda bombearse fácilmente y permanecerá en suspensión durante toda la vida útil del producto.

Aún otro objeto de la invención es proporcionar un producto que contenga organismos latentes vivos sin humedad para evitar que el organismo se active hasta que el producto se aplique al huésped objetivo.

25

Aún otro objeto de la invención es proporcionar un producto que contenga organismos latentes vivos que pueda aplicarse a un huésped objetivo a una tasa extremadamente pequeña.

30 Aún otro objeto de la invención es proporcionar un producto que contenga organismos latentes vivos que pueda aplicarse al forraje o al pienso a una tasa preferida de microtratamiento.

Según la presente invención, se proporciona un procedimiento para obtener y aplicar una mezcla estabilizada de organismos viables latentes según se define en la reivindicación 1.

35

El producto obtenido por el procedimiento de esta invención se aplica al huésped objetivo a una tasa de microtratamiento de 2 a 28 gramos por tonelada del huésped objetivo que se está tratando. Las bacterias vivas, al estar suspendidas en el vehículo sin humedad, permanecerán latentes hasta que entren en contacto con el huésped objetivo, en cuyo momento la humedad del huésped objetivo hará que las bacterias se activen. El producto esta envasado en recipientes de envío controlados como bolsas de poliuretano que reducen el riesgo de contaminación por humedad de cualquier tipo. El producto se vende y envía directamente al productor que, a continuación, tomará la bolsa plegable del producto y la colocará directamente sobre un aplicador que aplicará el producto sobre el huésped objetivo. El huésped objetivo puede ser forraje, pienso o similares. En algunos casos, el producto puede pulverizarse directamente sobre animales como pollos que ingerirán el producto durante su propio aseo. Aunque el producto es, idealmente, un producto mejorado que contiene bacterias vivas, este puede contener organismos latentes liofilizados que requieren humedad ambiental para iniciar su proliferación incluyendo, pero sin limitación, vacunas bacterianas y víricas de organismos vivos o modificados como Parvo, rinotraqueitis bovina, *Leptospira*, diarrea vírica bovina (BVD), virus del herpes bovino 1 (IBR) y parainfluenza 3 (P13) o patógenos modificados y no modificados.

45

50 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES

A continuación, el procedimiento de esta invención se describe para un producto que contiene bacterias latentes vivas. Sin embargo, se entenderá que el producto puede ser: 1) un organismo latente vivo que requiere humedad ambiental para iniciar su proliferación; 2) vacunas víricas o bacterianas de organismos vivos o modificados como Parvo, rinotraqueitis bovina, *Leptospira*, BVD, IBR y P13 o 3) patógeno modificados y no modificados.

55

En este procedimiento, se mezclan bacterias inocuas viables vivas convencionales con un vehículo o medio líquido sustancialmente sin humedad. En general, las bacterias vivas serán cualquier bacteria productora de ácido láctico

permitida para su uso en productos relacionados con animales. La *Food and Drug Administration* (FDA) de Estados Unidos y la *American Association of Feed Control Officials* (AAFCO) han publicado una lista de las especies de microorganismos «generalmente reconocidos como seguros» (GRASS, por sus siglas en inglés) para su uso en productos para administración directa de microorganismos (ADM). En la tabla I, a continuación se enumeran las 5 bacterias actualmente aprobadas para su uso en productos relacionados con animales.

TABLA I

36.14 – Microorganismos para ADM clasificados como «GRASS»	
Aspergillus niger	Lactobacillus curvatus
Aspergillus oryzae	Lactobacillus delbruekii
Bacillus coagulans	Lactobacillus fermentum
Bacillus lentus	Lactobacillus helveticus
Bacillus licheniformis	Lactobacillus lactis
Bacillus pumilus	Lactobacillus plantarum
Bacillus subtilis	Lactobacillus euterii
Bacteroides amylophilus	Leuconostoc mesenteroides
Bacteroides capillosus	Pediococcus acidilacticii
Bacteroides ruminicola	Pediococcus cerevisiae
Bacteroides suis	Pediococcus pentosaceus
Bifidobacterium adolescentis	Propionibacterium freudenreichii
Bifidobacterium animalis	Propionibacterium shermanii
Bifidobacterium bifidum	Saccharomyces cerevisiae
Bifidobacterium infantis	Enterococcus cremoris
Bifidobacterium longum	Enterococcus diacetylactis
Bifidobacterium thermophilum	Enterococcus faecium
Lactobacillus acidophilus	Enterococcus intermedius
Lactobacillus brevis	
Lactobacillus buchneri	Enterococcus lactis
Lactobacillus bulgaricus	Enterococcus thermophilus

(continuación)

36.14 – Microorganismos para ADM clasificados como «GRASS»	
Lactobacillus casei	Levadura (según se define cualquier otro documento)
Lactobacillus cellobiosus	

10

Preferiblemente, el vehículo líquido sin humedad está compuesto por un producto comercializado con la marca comercial «Synergel®» fabricado por Penreco (138 Petrolia Street, Karns City, Pensilvania 16041-9799). El producto generalmente se denomina aceite mineral gelificado, con número de referencia 1004-100, que tiene una viscosidad de Brookfield de 1.242 cPs. El producto vehículo es transparente, inodoro e insoluble en agua. El vehículo también incluye polímeros. También pueden usarse otros agentes de suspensión como Cobisal (fibra polimérica) de vez en cuando para ayudar o reducir la posibilidad de sedimentación de las bacterias en la misma. Aunque se prefiere el aceite sin humedad descrito anteriormente en este documento, puede usarse un aceite elaborado obtenido a partir de animales, vegetales o petróleo. El producto está diseñado para solo activar la bacteria en el punto físico de contacto con el huésped objetivo. Tras el contacto, el contenido en humedad ambiental del huésped objetivo activará las bacterias latentes que se encuentran en el medio o vehículo microbiano líquido. El medio o vehículo microbiano líquido se somete a un proceso de producción especial desarrollado por Penreco. El proceso consiste, en primer lugar, en pasar el aceite mineral a través de un sistema de filtración avanzado que dirige y absorbe específicamente cualquier humedad ambiental. En segundo lugar, se calienta el aceite mineral y se añaden polímero para aumentar la viscosidad del aceite y las cualidades de la suspensión. En tercer lugar, el aceite se envasa en recipientes de envío controlados que reducen el riesgo de contaminación por humedad de cualquier tipo.

15

20

25

30

Tras la recepción del vehículo envasado, el interesado añade preferiblemente a continuación un producto que elimina la humedad como un tamiz molecular adsorbente hidrófilo como plan de seguridad. El adsorbente puede contener una zeolita natural o sintética que consiste en aluminosilicato de metal cristalino, aluminosilicato de metal alcalino o aluminosilicato sódico. Finalmente, se añadirá cualquier bacteria necesaria para un objetivo en particular. A continuación, la mezcla final se envasa en recipientes con retardantes del efecto de la humedad y de la luz ultravioleta, como bolsas plegables de poliuretano, muy similares a las bolsas para inyección i.v. Después el producto se vende y envía directamente al comerciante y/o al usuario final. Entonces el usuario final tomará la bolsa

plegable con la mezcla del líquido microbiano y la colocará directamente en un aplicador de manera que se generen gotitas extremadamente pequeñas que se pulverizan sobre el huésped objetivo.

5 El procedimiento incluye la capacidad de inocular otros productos con bacterias vivas latentes mediante una aplicación de pulverización ligera. Mientras que las bacterias estén protegidas por la mezcla de aceite/polímero esto permitirá a las bacterias huésped sobrevivir más tiempo en un entorno desfavorable; el recubrimiento de la pared celular de la bacteria cubierta con el aceite/polímero proporciona una barrera fisicoquímica frente a la humedad. Lo anterior proporciona la capacidad de permitir que las bacterias vivas se introduzcan en un pienso granulado sin que se inactive inmediatamente de forma accidental el complejo aceite/polímero/bacteria huésped debido a la
10 contaminación por humedad del propio pienso.

De acuerdo con el procedimiento, en producto se aplica al huésped objetivo a una tasa de microtratamiento de 2 a 28 gramos por tonelada de forraje o de material tratado (sin necesidad de agua o vehículos adicionales). Este microtratamiento es sustancialmente menor que los productos previos en la técnica que presentaban tasas de
15 tratamiento que oscilaban de 37,88 gramos a 3,78 kg (8,3453 libras) por tonelada de forraje tratado.

El envasado limita la exposición del producto a una posible contaminación debido a fuentes externas, como aire muy húmedo o agua de cualquier tipo. El producto está diseñado para activarse únicamente en el punto físico de contacto con el huésped objetivo. Tras el contacto con el huésped objetivo, el cambio en el pH y la humedad activan
20 las bacterias latentes.

Por tanto, puede observarse que la invención cumple al menos todos los objetivos establecidos.

REIVINDICACIONES

1. El procedimiento para formar y aplicar una mezcla estabilizada de organismos viables latentes al pienso o forraje para animales como huésped objetivo; dicho procedimiento comprendiendo:
- 5 preparar una mezcla combinando un vehículo líquido sustancialmente sin humedad y los organismos latentes, donde el vehículo líquido comprende aceite mineral y polímeros y donde los polímeros son un agente de suspensión para los organismos latentes, y
- 10 pulverizar la mezcla sobre el huésped objetivo a una tasa de 2 a 28 gramos por tonelada de huésped objetivo.
2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la mezcla se pulveriza sobre el huésped objetivo que tiene un contenido en humedad y un valor de pH que causan la activación del organismo.
- 15 3. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que dicha mezcla incluye un tamiz molecular adsorbente hidrófilo.
4. El procedimiento de la reivindicación 3, en el que dicho adsorbente comprende una zeolita natural o sintética.
- 20 5. El procedimiento de la reivindicación 4, en el que dicha zeolita comprende aluminosilicato de metal cristalino.
6. El procedimiento de la reivindicación 4, en el que dicha zeolita comprende aluminosilicato de metal
- 25 alcalino.
7. El procedimiento de la reivindicación 4, en el que dicha zeolita comprende aluminosilicato de sodio.
8. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el organismo comprende
- 30 una vacuna bacteriana viva.
9. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el organismo comprende una vacuna vírica viva.
- 35 10. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el organismo comprende un patógeno modificado o no modificado.