

P-16637

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente No. **NC2019/0000724**Solicitud de patente a nombre de **BAYER ANIMAL HEALTH GMBH**

Yo, CAROLINA DAZA MONTALVO identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la Carrera 11 No. 86-53, obrando como apoderada de la sociedad BAYER ANIMAL HEALTH GMBH, solicitante de la patente de la referencia, en respuesta al oficio No. **7745** notificado electrónicamente el 01 de julio de 2020, relacionado con los requerimientos de fondo de la solicitud, atentamente me permito presentar la siguiente información:

1. Modificación al Título de la Solicitud

El examinador ha indicado que el título no se relaciona con el objeto de la solicitud contenido en la descripción y las reivindicaciones. Siguiendo la sugerencia del examinador, se solicita modificar el título para recitar: *"UNA COMPOSICIÓN INMUNOMODULADORA QUE COMPRENDE UN VEHÍCULO DE ADMINISTRACIÓN DE LIPOSOMAS CATIÓNICOS Y UNA MOLÉCULA DE ÁCIDO NUCLÉICO DERIVADA DE BACTERIAS AISLADAS QUE NO CODIFICA PARA UN INMUNÓGENO"*.

2. Modificación a las Reivindicaciones

Con fundamento en la facultad que confiere el artículo 34 de la Decisión 486 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, presento junto con este memorial nuevo capítulo reivindicatorio, el cual consta de diez (10) reivindicaciones y reemplaza completamente el presentado anteriormente. Específicamente, se realizaron las siguientes modificaciones:

2.1 Se modificó la reivindicación 5 a fin de reemplazar el compuesto *"I-2-*

*(oleoyloxi)etil]-2-oleil-3-(2-hidroxi)imidazolinio (DOTIM)" por el nombre correcto "1-[2-(oleo*il*loxi)etil]-2-oleil-3-(2-hidroxi)imidazolinio (DOTIM)".*

En cuanto a estas modificaciones, me permito decir que las mismas no amplían de ninguna manera la materia objeto de la presente solicitud y se realizaron con el ánimo de superar las objeciones de claridad y patentabilidad planteadas por el examinador en su concepto técnico.

3. Pago de tasas

Considerando que el presente memorial se presenta junto con modificaciones a las reivindicaciones y a la descripción se adjunta recibo por concepto de pago de tasa de modificación, según lo establecido en la **Resolución 59669 de 2020**.

Adicionalmente, teniendo en cuenta que el solicitante podrá pedir máximo en dos oportunidades la realización de un nuevo estudio de patentabilidad (Artículo 10, numeral 1.2.2.5.1 ítem d) de la **Resolución 59669 de 2020**), se adjunta recibo por concepto de pago de nuevo examen de patentabilidad.

En relación con el número de reivindicaciones, atentamente nos permitimos decir que no se adjunta tasa por concepto de reivindicaciones adicionales, toda vez que el nuevo capítulo reivindicatorio tiene igual número de reivindicaciones que el anteriormente presentado, y en esencia es el mismo objeto, pero definido con mayor claridad.

4. Claridad y concisión de las reivindicaciones

El solicitante manifiesta que mediante la presentación del nuevo capítulo reivindicatorio quedan subsanadas la totalidad de las objeciones, de modo tal que las nuevas reivindicaciones proporcionan claridad y concisión a la invención descrita, siguiendo las recomendaciones realizadas por el examinador en su concepto técnico. En relación con las diferentes objeciones formuladas, se desea manifestar lo siguiente:

- 4.1** El examinador ha indicado que los términos y expresiones "*vehículo de administración de liposomas catiónicos*", "*molécula de ácido nucleico derivada de bacterias aisladas que no codifica para un inmunógeno*", "*donde dicha molécula de ácido nucleico comprende al menos un motivo CpG inmunoestimulador y al menos un motivo CpG no inmunoestimulador*", "*donde el vehículo de administración de liposomas comprende lípidos seleccionados a partir del grupo*

que consiste en lípidos de vesículas multilamelares y lípidos extruidos”, “un agente biológico”, “donde el agente biológico se selecciona a partir del grupo que consiste en proteínas inmunopotenciadoras, inmunógenos, vacunas, antimicrobianos o cualquier combinación de éstos” y “un transportador farmacéuticamente aceptable” corresponden a términos/expresiones generales que no permiten delimitar adecuadamente el objeto de la invención. Además, el examinador ha alegado que el capítulo reivindicatorio no define una composición como tal, ya que sus ingredientes activos, excipientes y cantidades o proporciones no son divulgadas. En dicho respecto, el solicitante respetuosamente difiere de la opinión del examinador y llama su atención frente a la legislación colombiana en patentes, la cual establece que el lenguaje utilizado en una solicitud de patente debe ser el lenguaje común del campo técnico relacionado y su significado y alcance en las reivindicaciones, debe ser el que normalmente se da en el área técnica de la solicitud, siendo claro para la persona versada en la materia con su sola lectura, lo que cumple a cabalidad la presente solicitud. Así las cosas, las reivindicaciones de la presente solicitud son lo suficientemente claras y concisas precisando la materia reclamada, pues el uso de los términos/expresiones objetados, a la luz del Capítulo Descriptivo resultan completamente reconocibles por cualquier persona medianamente versada en la materia.

Dado lo anterior, la restricción de los términos/expresiones en cuestión sería simplemente una limitación no deseada que conduciría a la obtención de una patente sin uso debido a su alcance limitado.

- 4.2** El examinador ha señalado que, *“la estructura de la reivindicación 1 no permite identificar con claridad el objeto a proteger y las características que lo definen. Se recomienda presentar cada reivindicación conservando la estructura: “Preámbulo - enlace gramatical - parte característica”*”. En respuesta a ello, el solicitante respetuosamente manifiesta su desacuerdo y expresa que las reivindicaciones estudiadas están redactadas de acuerdo con la estructura indicada, por lo tanto, la objeción en cuestión no aplica.

En consecuencia, nos permitimos indicar que el presente capítulo reivindicatorio, que incluye diez (10) reivindicaciones, se ajusta a las disposiciones del artículo 30 de la Decisión 486/00.

5. Descripción

Se presenta junto con este memorial una nueva descripción en la cual se reemplazó el compuesto "*1-[2-(oleoyloxi)etil]-2-oleil-3-(2-hidroxi)imidazolinio (DOTIM)*" por el nombre correcto "***1**-[2-(oleo**i**loxi)etil]-2-oleil-3-(2-hidroxi)imidazolinio (DOTIM)*". Dicha modificación se realizó en la Página 1, línea 43 y Página 3, línea 42 de la descripción inicialmente presentada. Adicionalmente, se corrigieron algunos errores tipográficos.

6. Novedad

El examinador establece en su concepto técnico la falta de novedad de las antiguas reivindicaciones 1 a 10 a la luz de las enseñanzas técnicas descritas en los documentos WO2015128461 (D1) y WO2012084951 (D2).

En este sentido, me permito decir que el artículo 16 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina establece que la invención se considera nueva cuando no está comprendida en el estado de la técnica. Esto significa que para que un documento del estado de la técnica pueda afectar la novedad de una solicitud, deberá revelar todas y cada una de las características técnicas que la definen.

Aplicando lo anterior al caso concreto, para que las razones que aduce ese Despacho para desvirtuar la novedad fuesen ciertas, sería forzoso que se demostrara que la invención de mi mandante esté comprendida en el estado de la técnica, específicamente en los documentos D1 y D2, de forma TOTAL, lo cual no sucede con la materia reclamada en el nuevo capítulo reivindicatorio.

Considerando la anterior definición se considera que la materia reclamada es tanto novedosa como inventiva en relación con el estado de la técnica citado. Por lo tanto, las nuevas reivindicaciones 1-10 son tanto novedosas como inventivas en relación con el estado de la técnica citado.

7. Conclusión

Con las modificaciones introducidas y los argumentos presentados puede concluirse que:

- i) La presente solicitud es clara, concisa y está debidamente soportada en la descripción, cumpliendo con los requerimientos del Artículo 30 de la Decisión 486; y
- ii) Las reivindicaciones actuales son patentables sobre D1 y D2, cumpliendo así con los requerimientos de los Artículos 16 y 18 de la Decisión 486.

Habiendo atendido cabalmente las objeciones presentadas por ese despacho, atentamente solicitamos se conceda el privilegio de patente de invención a la solicitud en estudio o si el señor examinador considera que subsisten razones para objetar la presente invención, rogamos expedir otro examen de fondo con los debidos motivos y razones que sustenten su objeción con el fin de que nuestro mandante tenga la posibilidad de exponer sus argumentos con base en la interpretación de los artículos 45 de la Decisión 486 -el cual otorga la facultad al examinador para emitir los exámenes de fondo- y 42 del Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo que señala que: "*habiéndose dado oportunidad a los interesados para expresar sus opiniones, y con base en las pruebas e informes disponibles, se tomará la decisión, que será motivada. La decisión resolverá todas las peticiones que hayan sido oportunamente planteadas dentro de la actuación por el peticionario y por los terceros reconocidos*", (el subrayado es nuestro).

En consecuencia, solicitamos a ese Despacho pronunciarse en relación con todos los argumentos presentados en este memorial dando estricta aplicación al principio del debido proceso consagrado en el artículo 29 de la Constitución Nacional.

8. Anexos

- Nuevo capítulo reivindicatorio conformado por diez (10) reivindicaciones.
- Comprobante de pago correspondiente a nuevo examen de patentabilidad.
- Comprobante de pago correspondiente a tasa por modificación.

Señora Directora,



CAROLINA DAZA MONTALVO

C.C. 66.783.790 de Palmira Valle

TP-141563 CSJ

notificaciones@clarkemodet.com.co

REIVINDICACIONES

1. Una composición inmunomoduladora, que comprende:
 - a. un vehículo de administración de liposomas catiónicos, y
 - b. una molécula de ácido nucleico derivada de bacterias aisladas que no codifica para un inmunógeno.
2. La composición inmunomoduladora de la reivindicación 1, en donde dicha molécula de ácido nucleico comprende al menos un motivo CpG inmunoestimulador y al menos un motivo CpG no inmunoestimulador.
3. La composición inmunomoduladora de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la molécula de ácido nucleico tiene al menos un 80 % de homología secuencial con la secuencia de ID SEQ No.: 1, ID SEQ No.: 2, o ID SEQ No.: 3.
4. La composición inmunomoduladora de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el vehículo de administración de liposomas comprende lípidos seleccionados a partir del grupo que consiste en lípidos de vesículas multilamelares y lípidos extruidos.
5. La composición inmunomoduladora de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el vehículo de administración de liposomas comprende pares de lípidos seleccionados a partir del grupo que consiste en cloruro de N-[1-(2,3-dioleiloxi)propil]-N,N,N-trimetilamonio (DOTMA) y colesterol; cloruro de N-[1-(2,3-dioleiloxi)propil]N,N,N-trimetilamonio (DOTAP) y colesterol; cloruro de 1-[2-(oleiloxi)etil]-2-oleil-3-(2-hidroxietil)imidazolinio (DOTIM) y colesterol; y bromuro de dimetildioctadecilamonio (DDAB) y colesterol.
6. La composición inmunomoduladora de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la molécula de ácido nucleico comprende la ID SEQ No.: 1.
7. La composición inmunomoduladora de cualquiera de las reivindicaciones 1 - 5, en donde la molécula de ácido nucleico comprende la ID SEQ No.: 2.
8. La composición inmunomoduladora de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición comprende además un agente biológico.

9. La composición inmunomoduladora de la reivindicación 8, en donde el agente biológico se selecciona a partir del grupo que consiste en proteínas inmunopotenciadoras, inmunógenos, vacunas, antimicrobianos o cualquier combinación de éstos.

10. La composición inmunomoduladora de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición comprende además un transportador farmacéuticamente aceptable.

DESCRIPCIÓN

Aumento de la fertilidad en especies bovinas

CAMPO DE LA INVENCION

- 5 La presente invención se refiere a composiciones y métodos para inmunomodulación en vacas. En particular, la presente invención incluye composiciones y métodos que son eficaces para aumentar el porcentaje de concepción al primer servicio en vacas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 La mayor morbilidad y mortalidad en el ganado lechero se produce en el período periparto. Se demostró que la función inmunológica está comprometida entorno al parto, con una disminución del recuento de glóbulos blancos y una reducción de la función de los glóbulos blancos como se demuestra a través de los ensayos de mieloperoxidasa y fagocitosis. Si la función inmunológica pudiera potenciarse entorno al parto, los resultados reproductivos, que pueden ser sensibles a la función inmune, podrían mejorarse.

- 15 La fertilidad del ganado lechero está disminuyendo a escala internacional debido a múltiples factores, entre los que se incluyen el aumento del tamaño del rebaño, la reducción de la sensibilidad y especificidad de la detección del celo, el descenso de la puntuación del estado físico durante el parto y el aumento de la pérdida del estado físico después del parto. McDougall, J. Reproduction and Development 52, 185-194 (2006). Se necesitan altos niveles de rendimiento reproductivo para mantener una óptima salud y productividad del rebaño. La técnica requiere de composiciones y métodos capaces de aumentar la capacidad reproductiva de vacas y vaquillonas.

COMPENDIO DE LA INVENCION

- 25 La presente invención se refiere a composiciones inmunomoduladoras para aumentar los porcentajes de concepción en vacas y vaquillonas. En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora puede comprender un vehículo de administración de liposomas catiónicos y una molécula de ácido nucleico derivada de bacterias aisladas que no codifican para un inmunógeno para aumentar el porcentaje de concepción en vacas y vaquillonas...

- 30 En algunas formas de realización, la molécula de ácido nucleico comprende al menos un motivo CpG inmunoestimulador y al menos un motivo CpG no inmunoestimulador. En otras formas de realización, la molécula de ácido nucleico tiene al menos un 80 % de homología secuencial con la secuencia de ID SEC N°: 1, ID SEC N°: 2, ID SEC N°: 3, o ID SEC N°: 4. En otras formas de realización, la molécula de ácido nucleico comprende la ID SEC N°: 1. En otras formas de realización, la molécula de ácido nucleico comprende la ID SEC N°: 2.
- 35 En otras formas de realización, la molécula de ácido nucleico comprende la ID SEC N°: 3. En otras formas de realización, la molécula de ácido nucleico comprende la ID SEC N°: 4.

- 40 En algunas formas de realización, el vehículo para la administración de liposomas comprende lípidos seleccionados a partir del grupo que consiste en lípidos de vesículas multilamelares y lípidos extruidos. En otras formas de realización, el vehículo de administración de liposomas comprende pares de lípidos seleccionados a partir del grupo que consiste en cloruro de N- [1- (2,3-dioleiloxi) propil] -N, N, N-trimetil-amonio (DOTMA) y colesterol; cloruro de N- [1- (2,3 - dioleiloxi) propil] N, N, N - trimetilamonio (DOTAP) y colesterol; cloruro de 1- [2- (oleoiloxi) etil] - 2 - oleil - 3- (2 - hidroxietil) imidazolinio (DOTIM) y colesterol; y bromuro de dimetildiocetadecilamonio (DDAB) y colesterol.

- En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora comprende además un agente biológico. En otras formas de realización, el agente biológico se selecciona a partir del grupo que consiste en proteínas inmunopotenciadoras, inmunógenos, vacunas, antimicrobianos o cualquier combinación de éstos. En algunas formas de realización, la
- 5 composición inmunomoduladora comprende además un transportador farmacéuticamente aceptable.
- En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora es para la administración y se selecciona a partir del grupo que consiste en la administración intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, subcutánea, por
- 10 pulverización/aerosol, oral, intraocular, intraquial, intrauterina, intravaginal e intranasal.
- En algunas formas de realización, el porcentaje de concepción en vacas aumenta en relación con el porcentaje de concepción de una población de control.
- En algunas formas de realización, el porcentaje de concepción en vacas no cíclicas aumenta en relación con el porcentaje de concepción de una población de control.
- 15 En algunas formas de realización, el porcentaje de concepción al primer servicio en vacas aumenta en relación con el porcentaje de concepción del primer servicio de una población de control.
- En algunas formas de realización, el porcentaje de concepción al primer servicio en vacas no cíclicas aumenta en relación con el porcentaje de concepción al primer servicio de una
- 20 población de control.
- En algunas formas de realización, el porcentaje de concepción en vacas aumenta en relación con el porcentaje de concepción al primer servicio de una población de control tal como se midió a través de un valor p de $\leq 0,05$.
- 25 En algunas formas de realización, el porcentaje de concepción en vacas no cíclicas aumenta en relación con el porcentaje de concepción en una población de control tal como se midió a través de un valor p de $\leq 0,05$.
- En algunas formas de realización, el porcentaje de concepción al primer servicio en vacas aumenta en relación con el porcentaje de concepción al primer servicio de una población de control tal como se midió a través de un valor p de $\leq 0,05$.
- 30 En algunas formas de realización, el porcentaje de concepción al primer servicio en vacas no cíclicas aumenta en relación con el porcentaje de concepción al primer servicio de una población de control tal como se midió a través de un valor p de $\leq 0,05$.
- La presente invención también se refiere a métodos para aumentar el porcentaje de concepción en vacas, que comprende administrar a vacas una cantidad eficaz de una
- 35 composición inmunomoduladora. En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora puede comprender un vehículo de administración de liposomas catiónicos y una molécula de ácido nucleico que no codifica para un inmunógeno.
- La presente invención también se refiere a métodos para aumentar el porcentaje de concepción en vacas, que comprende administrar a vacas una cantidad eficaz de una
- 40 composición inmunomoduladora. En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora puede comprender un vehículo de administración de liposomas catiónicos y una molécula de ácido nucleico derivada de bacterias aisladas que no codifica para un inmunógeno.

La presente invención también se refiere a métodos para aumentar el porcentaje de concepción en vacas no cíclicas, que comprende administrar a vacas una cantidad eficaz de una composición inmunomoduladora. En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora puede comprender un vehículo de administración de liposomas catiónicos y una molécula de ácido nucleico que no codifica para un inmunógeno.

La presente invención también se refiere a métodos para aumentar el porcentaje de concepción en vacas no cíclicas, que comprende administrar a vacas una cantidad eficaz de una composición inmunomoduladora. En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora puede comprender un vehículo de administración de liposomas catiónicos y una molécula de ácido nucleico derivada de bacterias aisladas que no codifica para un inmunógeno.

La presente invención también se refiere a métodos para aumentar el porcentaje de concepción al primer servicio en vacas, que comprende administrar a vacas una cantidad eficaz de una composición inmunomoduladora. En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora puede comprender un vehículo de administración de liposomas catiónicos y una molécula de ácido nucleico que no codifica para un inmunógeno.

La presente invención también se refiere a métodos para aumentar el porcentaje de concepción al primer servicio en vacas, que comprende la administración de una cantidad eficaz de una composición inmunomoduladora. En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora puede comprender un vehículo para la administración de liposomas catiónicos y una molécula de ácido nucleico derivada de bacterias aisladas que no codifica para un inmunógeno.

La presente invención también se refiere a métodos para aumentar el porcentaje de concepción al primer servicio en vacas no cíclicas que comprende administrar a vacas una cantidad eficaz de una composición inmunomoduladora. En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora puede comprender un vehículo de administración de liposomas catiónicos y una molécula de ácido nucleico que no codifica para un inmunógeno.

La presente invención también se refiere a métodos para aumentar el porcentaje de concepción al primer servicio en vacas no cíclicas que comprende administrar a vacas una cantidad eficaz de una composición inmunomoduladora. En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora puede comprender un vehículo de administración de liposomas catiónicos y una molécula de ácido nucleico derivada de bacterias aisladas que no codifica para un inmunógeno.

En algunas formas de realización, la molécula de ácido nucleico comprende al menos un motivo CpG inmunoestimulador y al menos un motivo CpG no inmunoestimulador. En otras formas de realización, la molécula de ácido nucleico tiene al menos un 80 % de homología secuencial con la secuencia de ID SEC N°: 1, ID SEC N°: 2, ID SEC N°: 3, o ID SEC N°: 4. En algunas formas de realización, la molécula de ácido nucleico comprende la ID SEC N°: 1. En otras formas de realización, la molécula de ácido nucleico comprende la ID SEC N°: 2. En otras formas de realización, la molécula de ácido nucleico comprende la ID SEC N°: 3. En otras formas de realización, la molécula de ácido nucleico comprende la ID SEC N°: 4.

En algunas formas de realización, el vehículo de administración de liposomas comprende lípidos seleccionados a partir del grupo que consiste en lípidos de vesículas multilamelares y lípidos extruidos. En otras formas de realización, el vehículo de administración de liposomas comprende pares de lípidos seleccionados a partir del grupo que consiste en cloruro de N-[1-(2,3-dioleiloxy) propil] -N, N, N-trimetil-amonio (DOTMA) y colesterol; cloruro de N-[1-(2,3

- dioleoiloxi) propil] N, N, N - trimetilamonio (DOTAP) y colesterol; cloruro de 1- [2- (oleoiloxi) etil] - 2 - oleil - 3- (2 - hidroxietil) imidazolinio (DOTIM) y colesterol; y bromuro de dimetildioctadecilamonio (DDAB) y colesterol.

- 5 En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora comprende además un agente biológico. En otras formas de realización, el agente biológico se selecciona a partir del grupo que consiste en proteínas inmunopotenciadoras, inmunógenos, vacunas, antimicrobianos o cualquier combinación de éstos. En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora comprende además un transportador farmacéuticamente aceptable.
- 10 En algunas formas de realización, la composición inmunomoduladora es para administración y se selecciona a partir del grupo que consiste en la administración intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, subcutánea, por pulverización/aerosol, oral, intraocular, intraquial, intrauterina, intravaginal e intranasal.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 15 **FIG. 1** muestra un mapa del plásmido pMB75.6 (ID SEC N°: 1)

FIG. 2 muestra un mapa del plásmido pGCMB75.6 (ID SEC N°: 2)

FIG. 3. muestra un mapa del plásmido pLacZMB75.6 (ID SEC N°: 3)

- 20 **FIG. 4A** muestra un gráfico de la probabilidad (medias marginales estimadas y error estándar de la media (SEM)) de la concepción a la primera inseminación y **FIG. 4B** muestra la probabilidad (medias marginales estimadas y SEM) de preñez en el transcurso de 3 semanas después del comienzo planeado del programa de reproducción para vacas cíclicas y no cíclicas por grupos de tratamiento. El asterisco indica una diferencia entre los tratamientos dentro del grupo no cíclico.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 25 De conformidad con la presente invención las composiciones inmunomoduladoras y los métodos de uso de éstos para aumentar el porcentaje de concepción en vacas. La composición inmunomoduladora puede incluir un vehículo de administración de liposomas catiónicos y una molécula de ácido nucleico derivada de bacterias aisladas que no codifica para un inmunógeno. A continuación se abordan en forma más detallada las composiciones y los métodos de uso de las composiciones inmunomoduladoras.
- 30

I. Composición

- Las composiciones útiles en esta invención, tales como las que se describen en la presente memoria descriptiva, suelen ser utilizadas como tratamiento profiláctico, tratamiento metafílico o tratamiento para enfermedades infecciosas. Dichas composiciones se denominan en el presente documento como composiciones inmunomoduladoras. Las composiciones inmunomoduladoras incluyen al menos un plásmido inmunoestimulador o una secuencia de ADN inmunoestimuladora, capaz de aumentar el porcentaje de concepción en vacas. En algunos aspectos, las composiciones inmunomoduladoras también pueden incluir un vehículo de administración de liposomas.
- 35

40 A. Ácidos Nucleicos

En algunos aspectos, la presente invención se refiere a moléculas de ácido nucleico que se usan para aumentar el porcentaje de concepción en vacas. Las moléculas de ácido nucleico

5 descritas en el presente documento pueden incluirse en un plásmido inmunoestimulador, como ADN lineal bicatenario o monocatenario, secuencia de aminoácidos, ácido ribonucleico (ARN) o combinaciones de éstos. En algunos aspectos, la presente invención se refiere a moléculas de ácido nucleico, vectores y células huésped (in vitro, in vivo o ex vivo) que contienen el plásmido inmunoestimulador o la secuencia de ADN inmunoestimuladora.

10 Las moléculas de ácido nucleico descritas aquí están enriquecidas en motivos CpG. Estos motivos CpG pueden inducir inmunoestimulación a través de receptores Toll específicos, tales como TLR9 y TLR21. Además, las moléculas de ácido nucleico descritas en el presente documento también contienen motivos CpG no inmunoestimuladores. En algunos aspectos, las moléculas de ácido nucleico contienen aproximadamente el 2-20 % de motivos CpG por encima de la frecuencia de los motivos CpG esperados en secuencias de ácido nucleico aleatorias. En algunos aspectos, las moléculas de ácido nucleico contienen aproximadamente el 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40 %, o más de motivos CpG por encima de la frecuencia de los motivos CpG esperados en secuencias de ácidos nucleicos aleatorias. En algunos aspectos, las moléculas de ácido nucleico contienen aproximadamente el 10 % de motivos CpG por encima de la frecuencia de los motivos CpG esperados en secuencias de ácidos nucleicos aleatorias. En algunos aspectos, en comparación con el ADN de los vertebrados, se observa un enriquecimiento de motivos CpG de más de 10 veces. En algunos aspectos, las moléculas de ácido nucleico contienen aproximadamente 2 a 50 veces, o más motivos CpG en comparación con el ADN de los vertebrados. En algunos aspectos, las moléculas de ácido nucleico contienen aproximadamente 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 veces o más motivos CpG en comparación con el ADN de los vertebrados.

25 En algunos aspectos, la presente invención se refiere a plásmidos inmunoestimuladores, o a secuencias de ADN, que comprenden un gen de resistencia a antibióticos. Por ejemplo, el plásmido pMB75.6 descrito en el presente documento comprende el gen de resistencia al antibiótico kanamicina. La Tabla 1 presenta la secuencia de pMG75.6 como ID SEC N°: 1.

30 En algunos aspectos, la presente invención se refiere a plásmidos inmunoestimuladores, o a secuencias de ADN, que no comprenden un gen de resistencia a antibióticos. Los plásmidos pueden estar desprovistos de cualquier gen marcador seleccionable o detectable. Por ejemplo, el plásmido pGCMB75.6 descrito en el presente documento no comprende ningún gen marcador seleccionable o detectable de longitud completa o funcional. La Tabla 1 presenta la secuencia de pGCMB75.6 como ID SEC N°: 2.

35 En algunos aspectos, los plásmidos inmunoestimuladores descritos en el presente documento no comprenden preferentemente una secuencia de ácido nucleico que codifica para un marcador seleccionable o detectable de longitud completa o funcional. En algunos aspectos, los plásmidos inmunoestimuladores no comprenden un gen de resistencia a antibióticos. Por ejemplo, los plásmidos no comprenden un gen de resistencia a la kanamicina. En algunos aspectos, los plásmidos aquí descritos de preferencia no codifican un inmunógeno.

45 En algunos aspectos, los plásmidos inmunoestimuladores pueden comprender una secuencia de ácidos nucleicos que codifica para un gen marcador seleccionable o detectable que no es un gen de resistencia a antibióticos. Por ejemplo, el plásmido pLacZMB75.6 descrito en el presente documento comprende un gen LacZ como un marcador seleccionable. La FIG 3 presenta un mapa de pLacZMB75.6 y la Tabla 1 presenta la secuencia de pLacZMB75.6 como ID SEC N°: 3. Como se muestra en la FIG 3, pLacZMB75.6 es similar a pGCMB75.6, pero contiene un marcador seleccionable LacZ.

Se apreciará que las secuencias de nucleótidos de plásmidos pMB75.6, pGCMB75.6 o pLacZMB75.6 pueden variarse hasta cierto punto sin afectar negativamente sus propiedades inmunoestimuladoras en forma significativa. En algunos aspectos, la presente invención se refiere a un plásmido inmunoestimulador que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos un 80 % de identidad secuencial con la secuencia de pMB75.6 (ID SEC N°: 1). El plásmido inmunoestimulador comprende preferentemente una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos un 80 %, al menos un 81 %, al menos un 82 %, al menos un 83 %, al menos un 84 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad secuencial con la secuencia de pMB75.6 (ID SEC N°: 1). En algunos aspectos, el plásmido inmunoestimulador comprende con mayor preferencia la secuencia de pMB75.6 (ID SEC N°: 1).

En algunos aspectos, la presente invención se refiere a un plásmido inmunoestimulador que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos un 80 % de identidad secuencial con la secuencia de pGCMB75.6 (ID SEC N°: 2). El plásmido inmunoestimulador comprende preferentemente una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos un 80 %, al menos un 81 %, al menos un 82 %, al menos un 83 %, al menos un 84 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad secuencial con la secuencia de pGCMB75.6 (ID SEC N°: 2). En algunos aspectos, el plásmido inmunoestimulador comprende con mayor preferencia la secuencia de pGCMB75.6 (ID SEC N°: 2).

En algunos aspectos, la presente invención se refiere a un plásmido inmunoestimulador que consiste en una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos un 80 % de identidad secuencial con la secuencia de pMB75.6 (ID SEC N°: 1). El plásmido inmunoestimulador consiste preferentemente en una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos un 80 %, al menos un 81 %, al menos un 82 %, al menos un 83 %, al menos un 84 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad secuencial con la secuencia de pMB75.6 (ID SEC N°: 1). En algunos aspectos, el plásmido inmunoestimulador consiste con mayor preferencia en la secuencia de pMB75.6 (ID SEC N°: 1).

En algunos aspectos, la presente invención se refiere a un plásmido inmunoestimulador que consiste en una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos un 80 % de identidad secuencial con la secuencia de pGCMB75.6 (ID SEC N°: 2). El plásmido inmunoestimulador consiste preferentemente en una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos un 80 %, al menos un 81 %, al menos un 82 %, al menos un 83 %, al menos un 84 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad secuencial con la secuencia de pGCMB75.6 (ID SEC N°: 2). En algunos aspectos, el plásmido inmunoestimulador consiste con mayor preferencia en la secuencia de pGCMB75.6 (ID SEC N°: 2).

Otro aspecto importante de esta invención proporciona secuencias de ADN inmunoestimuladoras o plásmidos inmunoestimuladores capaces de estimular una

respuesta inmunitaria que comprende secuencias de ácidos nucleicos que hibridan en condiciones de alta rigurosidad con ID SEC N°: 1, o ID SEC N°: 2. Las secuencias de ácidos nucleicos adecuadas incluyen aquellas que son homólogas, sustancialmente similares o idénticas a los ácidos nucleicos de la presente invención. En algunos aspectos, las secuencias de ácidos nucleicos homólogas tendrán una similitud de secuencia de al menos el 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 % o el 100 % con la ID SEC N°: 1 o con la respectiva secuencia complementaria. En otros aspectos, las secuencias de ácidos nucleicos homólogas tendrán una similitud de secuencia de al menos el 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 % o el 100 % con la ID SEC N°: 2 o con la respectiva secuencia complementaria. La similitud de secuencias se puede calcular usando una serie de algoritmos conocidos en la técnica, tales como BLAST, descritos en Altschul, S.F. et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-10, 1990. Los ácidos nucleicos pueden diferir en secuencia de los ácidos nucleicos descritos anteriormente debido a la degeneración del código genético. En general, una secuencia de referencia será de 18 nucleótidos, con mayor generalidad de 30 o más nucleótidos, y puede comprender toda la secuencia de ácidos nucleicos de la composición con fines comparativos.

En el presente documento se contemplan secuencias de nucleótidos que pueden hibridar a ID SEC N°: 1, o ID SEC N°: 2. Las condiciones de hibridación rigurosas incluyen condiciones tales como hibridación a 50 °C o más y 0,1X SSC (cloruro de sodio 15 mM / citrato de sodio 1,5 mM). Otro ejemplo es la incubación nocturna a 42° C en una solución de formamida al 50 %, 5X SSC (NaCl 150 mM, citrato trisódico 15 mM), fosfato de sodio 50 mM (pH 7,6), solución de 5X solución de Denhardt, sulfato de dextrano al 10 % y 20 µg/ml de ADN de esperma de salmón desnaturalizado, cortado, seguido por lavado en 0,1X SSC a aproximadamente 65 °C. Ejemplos de condiciones de hibridación rigurosas son condiciones de hibridación que son al menos de aproximadamente el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % tan rigurosas como las anteriores condiciones específicas. Otras condiciones de hibridación rigurosas son conocidas en la técnica y también pueden emplearse para identificar homólogos de los ácidos nucleicos de la invención (Current Protocols in Molecular Biology, Unidad 6, pub. John Wiley & Sons, N.Y. 1989).

Se pueden usar nucleótidos mutantes de las moléculas de ADN descritas en el presente documento, siempre que los mutantes incluyan secuencias de ácidos nucleicos que mantienen la capacidad de aumentar el porcentaje de concepción en vacas como se describe en el presente documento. La secuencia de ADN de dicha mutación generalmente diferirá en uno o más nucleótidos o aminoácidos. Los cambios de secuencia pueden ser sustituciones, inserciones, eliminaciones o una combinación de éstas. Las técnicas para la mutagénesis de genes clonados son conocidas en la técnica. Se pueden encontrar los métodos para la mutagénesis específica del sitio en Gustin et al., *Biotechniques* 14:22, 1993; Barany, *Gene* 37:111-23, 1985; Colicelli et al., *Mol. Gen. Genet.* 199:537-9, 1985; y Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, CSH Press 1989, pp. 15.3-15.108 y se incorporan en el presente documento como referencia. En resumen, la invención se refiere a secuencias de ácidos nucleicos capaces de activar moléculas de vigilancia de ADN citosólicas en un sujeto y variantes o mutantes de éste. También, la invención abarca los ARN intermedios codificados por las secuencias de ácidos nucleicos descritas, así como cualquier secuencia de aminoácidos resultante codificada.

En algunos aspectos, donde la secuencia de nucleótidos del plásmido inmunoestimulador varía de las secuencias proporcionadas en las ID SEC N° 1 y 2, los dinucleótidos CpG en el plásmido se dejan preferentemente intactos. En forma alternativa, si la secuencia de

nucleótidos del plásmido se altera de tal manera que se elimina un dinucleótido CpG, la secuencia del plásmido puede alterarse en otra ubicación tal que el número total de dinucleótidos CpG en el plásmido permanezca igual. Asimismo, se pueden introducir en el plásmido dinucleótidos CpG además de los que ya están presentes en la secuencia de nucleótidos pGCMB75.6. Por lo tanto, por ejemplo, los plásmidos inmunoestimuladores descritos en el presente documento comprenden preferentemente al menos aproximadamente 200, al menos aproximadamente 220, al menos aproximadamente 240, al menos aproximadamente 260, al menos aproximadamente 270, al menos aproximadamente 275, al menos aproximadamente 280, al menos aproximadamente 283, al menos aproximadamente 285, o al menos aproximadamente 288 dinucleótidos CpG. Por ejemplo, el plásmido inmunoestimulador puede comprender 283 dinucleótidos CpG.

En algunos aspectos, cuando la secuencia de nucleótidos del plásmido inmunoestimulador varía a partir de las secuencias proporcionadas en el presente documento, se modifican los tipos de motivo CpG del plásmido para modular la activación resultante de las moléculas de vigilancia de ADN citosólicas. Por ejemplo, la cantidad de motivos CpG inmunoestimuladores puede aumentarse para aumentar la activación de moléculas de vigilancia de ADN citosólicas específicas que responden a un umbral específico de plásmido/ADN inmunoestimulador. A modo de ejemplo adicional, la cantidad de motivos CpG no inmunoestimuladores puede aumentarse para disminuir la activación de moléculas de vigilancia de ADN citosólicas específicas y/o aumentar la activación de otras moléculas de vigilancia de ADN.

En particular, la presente invención se refiere a formulaciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los plásmidos inmunoestimuladores o secuencias de ADN descritas en el presente documento y un transportador farmacéuticamente aceptable.

B. Inmunomodulador

Las composiciones inmunomoduladoras adecuadas para ser usadas con los plásmidos inmunoestimuladores descritos en el presente documento se describen en las Publicaciones de las Solicitudes de Patentes de Estados Unidos N° 2012/0064151 A1 y 2013/0295167 A1, cuyos contenidos se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

La composición inmunomoduladora comprende un vehículo de administración de liposomas y al menos uno de los plásmidos inmunoestimuladores, o secuencias de ADN, descritos en el presente documento.

Un vehículo adecuado de administración de liposomas comprende una composición lipídica que es capaz de administrar moléculas de ácidos nucleicos a los tejidos del sujeto tratado.

Un vehículo para la administración de liposomas es preferentemente capaz de permanecer estable en un sujeto durante una cantidad de tiempo suficiente para administrar una molécula de ácido nucleico y/o un agente biológico. Por ejemplo, el vehículo de administración de liposomas es estable en el sujeto receptor durante al menos aproximadamente cinco minutos, durante al menos aproximadamente 1 hora, o durante al menos aproximadamente 24 horas.

Un vehículo de administración de liposomas de la presente invención comprende una composición de lípidos que es capaz de facilitar la administración de una molécula de ácido nucleico a una célula. Cuando la molécula de ácido nucleico codifica una o más proteínas, el complejo de ácido nucleico-liposoma tiene preferentemente una eficacia de transfección de al menos aproximadamente 1 picograma (pg) de proteína expresada por miligramo (mg) de proteína tisular total por microgramo (µg) de ácido administrado. Por ejemplo, la eficacia de

transfección de un complejo de ácido nucleico-liposoma puede ser al menos aproximadamente 10 pg de proteína expresada por mg de proteína tisular total por µg de ácido nucleico administrado; o al menos aproximadamente 50 µg de proteína expresada por mg de proteína tisular total por µg de ácido nucleico administrado. La eficacia de transfección del complejo puede ser tan baja como 1 femtograma (fg) de proteína expresada por mg de proteína tisular total por µg de ácido nucleico administrado, siendo las más preferidas las cantidades anteriores.

Un vehículo preferido de administración de liposomas de la presente invención se encuentra entre aproximadamente 100 y 500 nanómetros (nm) de diámetro. Por ejemplo, el vehículo de administración de liposomas puede encontrarse entre aproximadamente 150 y 450 nm o entre aproximadamente 200 y 400 nm de diámetro.

Los liposomas adecuados incluyen cualquier liposoma, tal como los usados comúnmente en, por ejemplo, métodos de administración génica conocidos por los expertos en la técnica. Los vehículos preferidos para la administración de liposomas comprenden lípidos de vesículas multilamelares (MLV) y lípidos extruidos. Los métodos para la preparación de MLV son conocidos en la técnica. Los vehículos preferidos de administración de liposomas comprenden liposomas que tienen una composición lipídica policationica (es decir, liposomas catiónicos) y/o liposomas que tienen una estructura principal de colesterol conjugada con polietilenglicol. Ejemplos de composiciones de liposomas catiónicos incluyen, pero sin limitación, cloruro de N- [1- (2,3-dioleiloxi) propil] -N, N, N-trimetilamonio (DOTMA) y colesterol, N- [1- (2,3 (DOTAP) y colesterol, cloruro de 1- [2- (oleoiloxi) etil] - 2 - oleil - 3- (2 - hidroxietil) - imidazolinio (DOTIM) y colesterol, Bromuro de dimetildioctadecilamonio (DDAB) y colesterol, y combinaciones de éstos. Una composición de liposomas preferida para ser usada como vehículo de administración incluye DOTIM y colesterol.

Una molécula de ácido nucleico adecuada incluye cualquiera de los plásmidos inmunoestimuladores descritos en el presente documento. Las secuencias de ácidos nucleicos de codificación codifican al menos una porción de una proteína o péptido, mientras que la secuencia no codificante no codifica ninguna porción de una proteína o péptido. De acuerdo con la presente invención, los ácidos nucleicos "no codificantes" pueden incluir áreas reguladoras de una unidad de transcripción, como ser un área promotora. El término "vector vacío" puede usarse indistintamente con el término "no codificante", y se refiere particularmente a una secuencia de ácidos nucleicos en ausencia de una porción de codificación de proteína, como ser un vector de plásmido sin un inserto de gen. La expresión de una proteína codificada por los plásmidos descritos en el presente documento no es necesaria para la activación de moléculas de vigilancia de ADN citosólicas; por lo tanto los plásmidos no necesitan contener secuencias de codificación unidas operativamente a una secuencia de control de transcripción. Sin embargo, se pueden obtener otras ventajas (es decir, inmunidad específica del antígeno y potenciada) incluyendo en la composición la secuencia de ácidos nucleicos (ADN o ARN) que codifica un inmunógeno y/o una citoquina. Dicha secuencia de ácido nucleico que codifica un inmunógeno y/o una citoquina puede incluirse en los plásmidos inmunoestimuladores descritos en el presente documento, o puede incluirse en un ácido nucleico separado (por ejemplo, un plásmido separado) en la composición.

La complejación de un liposoma con los plásmidos inmunoestimuladores descritos en el presente documento se puede lograr usando métodos estándar en la técnica o como se describe en la Patente de Estados Unidos Nº 6.693.086, cuyo contenido se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad. Una concentración adecuada de un plásmido para agregar a un liposoma incluye una concentración eficaz para administrar una

cantidad suficiente del plásmido a un sujeto de modo tal que se genere una respuesta inmune sistémica. Por ejemplo, desde aproximadamente 0,1 µg hasta aproximadamente 10 µg de plásmido se pueden combinar con aproximadamente 8 nmol de liposomas, desde aproximadamente 0,5 µg hasta aproximadamente 5 µg de plásmido se pueden combinar con aproximadamente 8 nmol de liposomas, o se pueden combinar aproximadamente 1,0 µg de plásmido con aproximadamente 8 nmol de liposomas. La proporción entre plásmidos y lípidos (µg de plásmido: nmol de lípido) en una composición puede ser al menos de aproximadamente 1:1 plásmido: lípido en peso (por ejemplo, 1 µg de plásmido:1 nmol de lípido). Por ejemplo, la proporción de plásmido y lípidos puede ser al menos de aproximadamente 1: 5, al menos aproximadamente 1:10, o al menos aproximadamente 1:20. Las proporciones expresadas en este documento se basan en la cantidad de lípido catiónico de la composición, y no en la cantidad total de lípido de la composición. La relación de plásmidos y lípidos en una composición de la invención es adecuada de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1:80 plásmido: lípido en peso; de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 1:40 plásmido: lípido en peso; de aproximadamente 1:3 a aproximadamente 1:30 plásmido: lípido en peso; o de aproximadamente 1:6 a aproximadamente 1:15 plásmido: lípido en peso.

C. Agente biológico

Cualquiera de las composiciones inmunomoduladoras descritas en el presente documento comprende además al menos un agente biológico, además del vehículo de administración de liposomas y al menos uno de los plásmidos descritos en el presente documento.

Agentes biológicos adecuados son agentes que son eficaces para prevenir o tratar enfermedades. Estos agentes biológicos incluyen proteínas inmunopotenciadoras, inmunógenos, vacunas, antimicrobianos o cualquier combinación de éstos. Las proteínas inmunopotenciadoras adecuadas son las proteínas que se sabe que aumentan la inmunidad. A modo de ejemplo no restrictivo, una citoquina, que incluye una familia de proteínas, es una familia de proteínas inmunopotenciadora conocida. Los inmunógenos adecuados son proteínas que generan una respuesta inmune humoral y/o celular tal que la administración del inmunógeno a un sujeto aumenta una respuesta inmune específica de inmunógeno contra las mismas proteínas o proteína similares que se encuentran dentro de los tejidos del sujeto. Un inmunógeno puede incluir un antígeno patogénico expresado por una bacteria, un virus, un parásito o un hongo. Los antígenos preferidos incluyen antígenos derivados de organismos que causan una enfermedad infecciosa en un sujeto. De acuerdo con la presente invención, un inmunógeno puede ser cualquier parte de una proteína, que se produce naturalmente o derivada sintéticamente, lo que genera una respuesta inmune humoral y/o celular. Como tal, el antígeno o inmunógeno puede tener un tamaño pequeño que puede ser de aproximadamente 5-12 aminoácidos y un tamaño grande como una proteína de longitud completa, incluyendo cualquier tamaño entre ellos. El antígeno puede ser una proteína multímera o una proteína de fusión. El antígeno puede ser un antígeno purificado. En forma alternativa, la proteína o inmunógeno inmunopotenciador puede codificarse por el plásmido inmunoestimulador o por otro ácido nucleico incluido en la composición inmunomoduladora. Si la proteína o inmunógeno inmunopotenciador está codificada por una molécula de ácido nucleico en la composición inmunomoduladora, la secuencia de ácidos nucleicos que codifica la proteína o inmunógeno inmunoestimulador está unida operativamente a una secuencia de control de la transcripción, de manera tal que el inmunógeno se expresa en un tejido de un sujeto, generando de este modo una respuesta inmune específica de inmunógeno en el sujeto, además de la respuesta inmune no específica. Las técnicas para detectar la inmunogenicidad, tales como la inmunogenicidad

del antígeno patógeno o la actividad de la citocina son conocidas por los expertos en la técnica e incluyen varios ensayos in vitro e in vivo.

Si el agente biológico es una vacuna, la vacuna puede incluir una vacuna viva, infecciosa, viral, bacteriana o parásita o una vacuna muerta, inactivada, viral, bacteriana o parásita. Pueden usarse una o más vacunas, vacunas víricas vivas o muertas, en combinación con la composición inmunomoduladora de la presente invención. Las vacunas adecuadas incluyen las conocidas en la técnica para la especie aviar o bovina.

El agente biológico puede ser un antimicrobiano. Los antimicrobianos adecuados incluyen: quinolonas, preferentemente fluoroquinolonas, β -lactamasas y antibióticos macrólidos, lincosamidas, estreptograminas (MLS).

Las quinolonas adecuadas incluyen benofloxacin, binfloxacin, cinoxacina, ciprofloxacina, clinafloxacin, danofloxacin, difloxacin, enoxacina, enrofloxacin, fleroxacin, gemifloxacin, ibafloxacin, levofloxacin, lomefloxacin, marbofloxacin, moxifloxacin, norfloxacin, ofloxacin, orbifloxacin, pazufloxacin, pradofloxacin, perfloxacin, sarafloxacin, esparfloxacin, temafloxacin y tosufloxacin. Las fluoroquinolonas preferidas incluyen ciprofloxacina, danofloxacin, enrofloxacin, moxifloxacin y pradofloxacin. Las naftiridonas adecuadas incluyen ácido nalidíxico. Los β -lactámicos adecuados incluyen penicilinas (por ejemplo, amoxicilina, ampicilina, azlocilina, benzatina penicilina, bencilpenicilina, carbenicilina, cloxacilina, co-amoxiclav [es decir, amoxicilina/ácido clavulánico], dicloxacilina, flucloxacilina, meticilina, mezlocilina, nafcilina, oxacilina, fenoximetilpenicilina, piperacilina, Procaína penicilina, temocillina y ticarcilina); cefalosporinas (por ejemplo, cefaclor, cefalonio, cefamandole, cefapirina, cefazolina, cefepima, cefixima, cefotaxima, cefoxitina, cefpirome, cefpodoxima, cefquinoma, ceftazidima, ceftiofur, ceftriaxona, cefuroxima, cefalexina, cefalotina y defotetan); carbapenems y penems (por ejemplo, doripenem, ertapenem, faropenem, imipenem y meropenem); monobactámicos (por ejemplo, aztreonam, nocardicina A, tabtoxinina betalactámica y tigemonam); e inhibidores de β -lactámicos (por ejemplo, ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam). Los β -lactámicos preferidos incluyen cefalosporinas, en particular, cefazolina.

Los antibióticos MLS adecuados incluyen clindamicina, lincomicina, pirlimicina y cualquier antibiótico macrólido. Un antibiótico lincosamida preferido es la pirlimicina.

Otros antimicrobianos incluyen aminoglucósidos, clopidol, dimetridazoles, eritromicina, framacetina, furazolidona, halofuginona, 2-piridonas, robenidina, sulfonamidas, tetraciclinas, trimetoprima, varias pleuromutilinas (por ejemplo, tiamulina y valnemulina) y varias estreptomicinas (por ejemplo, monensina, narasina y salinomicina).

II. Métodos

A. Métodos de Inmunoestimulación

En una forma de realización de la invención, se induce una respuesta inmune en una hembra de la especie bovina administrando una cantidad eficaz de una composición inmunomoduladora a la hembra de la especie bovina. La cantidad eficaz es suficiente para generar una respuesta inmune en la hembra de la especie bovina. El inmunomodulador incluye un vehículo de administración de liposomas y una molécula de ácido nucleico.

En una forma de realización, la cantidad eficaz del inmunomoduladores de aproximadamente 1 microgramos hasta aproximadamente 1000 microgramos por animal. En otra forma de realización, la cantidad eficaz del inmunomoduladores de aproximadamente 5 microgramos hasta aproximadamente 500 microgramos por animal. En otra forma adicional

de realización, la cantidad eficaz del inmunomoduladores de aproximadamente 10 microgramos hasta aproximadamente 100 microgramos por animal. En otra forma de realización, la cantidad eficaz del inmunomoduladores de aproximadamente 10 microgramos hasta aproximadamente 50 microgramos por animal.

- 5 En una forma de realización de la invención, se induce una respuesta inmune en una hembra de la especie bovina administrando una cantidad eficaz de inmunomodulador, que incluye un vehículo de administración de liposomas, una molécula de ácido nucleico aislada y un agente biológico. Se contempla que el agente biológico se puede mezclar o coadministrar con el inmunomodulador o en forma independiente de éste. La administración
10 independiente puede ser anterior o posterior a la administración del inmunomodulador. También se contempla que se puede usar más de una administración del inmunomodulador o agente biológico para extender la inmunidad potenciada. Además, se puede coadministrar más de un agente biológico con el inmunomodulador, administrado antes del inmunomodulador, administrado después de la administración del inmunomodulador, o en
15 forma concomitante.

B. Porcentajes de concepción

- Los métodos de la invención son útiles para aumentar los porcentajes de concepción en vacas. En formas de realización preferidas, el porcentaje de concepción en vacas aumenta en relación con el porcentaje de concepción en una población de control. En algunas formas
20 de realización preferidas, el porcentaje de concepción en vacas aumenta en relación con el porcentaje de concepción en una población de control medida a través de un valor p de $\leq 0,05$.

- Los métodos de la invención son útiles para aumentar los porcentajes de concepción al primer servicio en vacas. El porcentaje de concepción al primer servicio se usa en este documento para referirse a la proporción de vacas criadas para inseminación artificial que se concibieron a la primera inseminación. En formas de realización preferidas, el porcentaje de
25 concepción en vacas aumenta en relación con el porcentaje de concepción al primer servicio en una población de control. En algunas formas de realización preferidas, el porcentaje de concepción al primer servicio aumenta en relación con el porcentaje de concepción al primer servicio en una población de control tal como se midió a través de un valor p de $\leq 0,05$.

- Los métodos de la invención son útiles para aumentar los porcentajes de concepción en vacas no cíclicas. “No cíclicas” se usa en este documento para referirse a vacas no detectadas en celo mediante observación o mediante eliminación de la pintura de la cola aproximadamente 30 días antes del comienzo planeado de la reproducción. En formas de
35 realización preferidas, el porcentaje de concepción en vacas no cíclicas aumenta en relación con el porcentaje de concepción en una población de control. En algunas formas de realización preferidas, el porcentaje de concepción en vacas no cíclicas aumenta en relación con el porcentaje de concepción en una población de control tal como se midió a través de un valor p de $\leq 0,05$.

- Los métodos de la invención son útiles para aumentar los porcentajes de concepción al primer servicio en vacas no cíclicas. En formas de realización preferidas, el porcentaje de concepción al primer servicio en vacas no cíclicas aumenta en relación con el porcentaje de concepción al primer servicio en una población de control. En algunas formas de realización preferidas, el porcentaje de concepción al primer servicio en vacas no cíclicas aumenta en
40 relación con el porcentaje de concepción al primer servicio en una población de control tal como se midió a través de un valor p de $\leq 0,05$.

C. Administración

Se dispone de una variedad de vías de administración. El modo particular seleccionado dependerá, por supuesto, de los agentes biológicos particulares seleccionados, de la edad y del estado general de salud del sujeto, de la afección particular que se está tratando y de la dosificación requerida para la eficacia terapéutica. Los métodos de esta invención se pueden practicar usando cualquier modo de administración que produzca niveles efectivos de una respuesta inmune sin causar efectos adversos clínicamente inaceptables. Las composiciones se pueden presentar convenientemente en formas de dosificación unitaria y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica.

La vacunación de las especies bovinas puede realizarse a cualquier edad. La vacuna puede administrarse por vía intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, subcutánea, por pulverización / aerosol, por vía oral, intraocular, intratraqueal, intranasal o por otros procedimientos conocidos en la técnica. Además, se contempla que los métodos de la invención se pueden usar en base a esquemas de vacunación de rutina. El inmunomodulador puede administrarse también por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, por pulverización, por vía oral, intraocular, intratraqueal, nasal o por otros métodos conocidos en la técnica. En una forma de realización, el inmunomodulador se administra por vía subcutánea. En otra forma de realización, el inmunomodulador se administra por vía intramuscular. En otra forma adicional de realización, el inmunomodulador se administra como un spray. En una forma de realización, el inmunomodulador se administra por vía oral.

En una forma de realización, antes del parto se le administra al animal el inmunomodulador solo. En otra forma de realización, después del parto se le administra al animal el inmunomodulador solo. En otra forma de realización, en el momento del parto se le administra al animal el inmunomodulador solo. En otra forma de realización, antes y en el momento del parto se le administra al animal el inmunomodulador solo. En otra forma de realización adicional, la composición del inmunomodulador se coadministra al mismo tiempo que la vacunación antes del parto. En otra forma de realización, la composición del inmunomodulador se coadministra al mismo tiempo que la vacunación en el momento del parto. La coadministración puede incluir la administración de la vacuna y del inmunomodulador en la misma zona general del animal, en dos sitios diferentes, una al lado del otro (es decir, las inyecciones una junto a la otra en el cuello del animal), en lados opuestos del animal en la misma zona general (es decir, una a cada lado del cuello), o en distintos lugares del mismo animal. En otra forma de realización, la composición del inmunomodulador se administra antes de la vacunación y del parto. En otra forma de realización, la composición del inmunomodulador se administra después de la vacunación pero antes del parto. En otra forma de realización, la composición del inmunomodulador se administra después del parto a un animal que fue vacunado antes del parto. Un experto en la materia reconocerá que las vías de administración pueden variar dependiendo del sujeto y de la salud o del estado del sujeto.

En una forma de realización, antes del apareamiento se le administra al animal el inmunomodulador solo. En otra forma de realización, después del apareamiento se le administra al animal el inmunomodulador solo. En otra forma de realización, al mismo tiempo que el apareamiento se le administra al animal el inmunomodulador solo. En otra forma de realización, antes y al mismo tiempo que el apareamiento se le administra al animal el inmunomodulador solo. En otra forma de realización, la composición del inmunomodulador se coadministra al mismo tiempo que la vacunación antes del apareamiento. En otra forma de realización, la composición del inmunomodulador se

coadministra al mismo tiempo que la vacunación en el momento del apareamiento. La coadministración puede incluir la administración de la vacuna y del inmunomodulador en la misma zona general del animal, en dos sitios diferentes, una al lado del otro (es decir, las inyecciones una junto a la otra en el cuello del animal), en lados opuestos del animal en la misma zona general (es decir, una a cada lado del cuello), o en distintos lugares del mismo animal. En otra forma de realización, la composición del inmunomodulador se administra antes de la vacunación y del apareamiento. En otra forma de realización, la composición del inmunomodulador se administra después de la vacunación pero antes del apareamiento. En otra forma de realización, la composición del inmunomodulador se administra después de la reproducción a un animal que fue vacunado antes del apareamiento. Un experto en la materia reconocerá que las vías de administración pueden variar dependiendo del sujeto y de la salud o del estado del sujeto.

En una forma de realización, el inmunomodulador se administra desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 14 días antes de la exposición o desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 14 días después de la exposición. En otra forma de realización, el inmunomodulador se administra desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 7 días antes de la exposición o desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 7 días después de la exposición. En otra forma de realización, el inmunomodulador se administra desde aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 días antes de la exposición o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 días después de la exposición. En otra forma de realización preferida, el inmunomodulador se administra 3 días antes de la exposición o 3 días después de la exposición.

Otros sistemas de administración pueden incluir sistemas de liberación prolongada, retardada o sostenida. Estos sistemas pueden evitar la repetición de las administraciones aumentando así la comodidad. Existen muchos tipos de sistemas de liberación disponibles y conocidos por los expertos en la técnica. Incluyen sistemas basados en polímeros tales como poli (lactida-glicolida), copolioxalatos, policaprolactonas, poliesteramidas, poliortoésteres, ácido polihidroxiбутírico y polianhídridos. Las microcápsulas de los polímeros anteriores que contienen fármacos se describen, por ejemplo, en la Patente de EE.UU. N° 5,075,109.

Los sistemas de administración incluyen también sistemas no poliméricos que son lípidos que incluyen esteroides tales como colesterol, ésteres de colesterol y ácidos grasos o grasas neutras tales como los mono-di y tri-glicéridos; sistemas de liberación de hidrogel; silyastic (sic); sistemas basados en péptidos; recubrimientos de cera; píldoras comprimidas que tienen aglutinantes convencionales y excipientes; implantes parcialmente fundidos; y similares. Ejemplos específicos incluyen, entre otros, sistemas de erosión en los que un agente de la invención está contenido en una forma dentro de una matriz tal como los descritos en la Patente de EE.UU. Números 4,452,775, 4,675,189 y 5,736,152, y sistemas de difusión en los que un principio activo penetra a una velocidad controlada a partir de un polímero tal como se describe en la Patente de EE.UU. Números 3.854.480, 5.133.974 y 5.407.686. Además, se pueden utilizar sistemas de administración de hardware basados en bombas, algunos de los cuales están adaptados para implantaciones.

Dado que pueden realizarse varios cambios en la composición, los productos y los métodos anteriores sin apartarse del alcance de la invención, se pretende que los contenidos de la descripción anterior y de los ejemplos brindados a continuación, se interpreten como ilustrativos y no en un sentido restrictivo.

DEFINICIONES

- El término "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad necesaria o suficiente para realizar un efecto biológico deseado. Por ejemplo, una cantidad eficaz de inmunomodulador para tratar o prevenir una enfermedad infecciosa es la cantidad necesaria para provocar el desarrollo de una respuesta inmunitaria tras la exposición al microbio, provocando así una reducción en la cantidad de microbios en el sujeto y preferentemente la erradicación del microbio. La cantidad eficaz para cualquier aplicación particular puede variar dependiendo de factores tales como la enfermedad o afección que se está tratando, el tamaño del sujeto o la gravedad de la enfermedad o de la afección. Un experto en la técnica puede determinar empíricamente la cantidad eficaz de inmunomodulador sin necesidad de experimentación indebida.
- El término "vaca" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a cualquier miembro de la especie bovina que sea capaz de gestar, incluyendo, entre otras, hembras bovinas, vacas y vaquillonas.
- El término "citoquina" se refiere a una familia de proteínas que potencian el sistema inmune. La familia de citoquinas incluye el factor de crecimiento hematopoyético, interleucinas, interferones, moléculas de superfamilia de inmunoglobulina, moléculas de la familia del factor de necrosis tumoral y quimiocinas (es decir, proteínas que regulan la migración y activación de las células, en particular células fagocíticas). Las citocinas ejemplares incluyen, entre otros, interleucina-2 (IL-2), interleucina-12 (IL12), interleucina-15 (IL-15), interleucina-18 (IL-18), interferón- α (IFN α) e interferón- γ (IFN γ).
- El término "generar" se puede usar indistintamente con los términos activar, estimular, producir o aumentar.
- El término "generar una respuesta inmune" en un sujeto se refiere específicamente a controlar o influir en la actividad de la respuesta inmune, y puede incluir la activación de una respuesta inmune, la regulación positiva de una respuesta inmune, la potenciación de una respuesta inmune y/o la alteración de una respuesta inmune (como ser la generación de un tipo de respuesta inmune que a su vez cambie el tipo prevalente de respuesta inmune en un sujeto de una respuesta dañina o ineficaz a otra beneficiosa o protectora).
- El término "unido operativamente" se refiere a la unión de una molécula de ácido nucleico a una secuencia de control de transcripción de manera tal que la molécula sea capaz de expresarse cuando sea transferida (es decir, transformada, transducida o transfectada) en una célula huésped. Las secuencias de control transcripcional son secuencias que controlan el inicio, la elongación y la terminación de la transcripción. Las secuencias de control de la transcripción particularmente importantes son aquellas que controlan el inicio de la transcripción, tales como las secuencias promotoras, potenciadoras, operadoras y represoras. Los expertos en la técnica conocen una variedad de estas secuencias de control de la transcripción. Las secuencias de control de la transcripción preferidas incluyen aquellas que funcionan en células de aves, peces, mamíferos, bacterias, plantas e insectos. Aunque se pueden usar secuencias de control transcripcionales con la invención, las secuencias pueden incluir secuencias de control de la transcripción de origen natural asociadas naturalmente con una secuencia que codifica un inmunógeno o una proteína inmunoestimuladora.
- Los términos "molécula de ácido nucleico" y "secuencia de ácido nucleico" pueden usarse indistintamente e incluyen ADN, ARN o derivados de ADN o ARN. Los términos incluyen también oligonucleótidos y secuencias más grandes, incluyendo moléculas de ácido

nucleico que codifican una proteína o un fragmento de éstas, y moléculas de ácido nucleico que comprenden regiones reguladoras, intrones u otro ADN o ARN no codificante. Normalmente, un oligonucleótido tiene una secuencia de ácido nucleico de aproximadamente 1 a aproximadamente 500 nucleótidos y, más comúnmente, tiene una longitud de al menos aproximadamente 5 nucleótidos. La molécula de ácido nucleico puede provenir de cualquier fuente, entre las que se incluyen fuentes de mamíferos, peces, bacterias, insectos, virus, plantas o sintéticas. Una molécula de ácido nucleico puede producirse por métodos comúnmente conocidos en la técnica tales como tecnología de ADN recombinante (por ejemplo, reacción en cadena de polimerasa (PCR), amplificación, clonación) o síntesis química. Las moléculas de ácido nucleico incluyen moléculas naturales de ácido nucleico y homólogos de éstas, entre las que se incluye, entre otras, variantes alélicas naturales y moléculas de ácido nucleico modificadas en las que se han insertado, eliminado, sustituido o invertido nucleótidos de tal manera que estas modificaciones no interfieren en forma sustancial con la capacidad de la molécula de ácido nucleico para codificar un inmunógeno o una proteína inmunoestimuladora útil en los métodos de la presente invención. Se puede producir un homólogo de ácido nucleico utilizando una serie de métodos conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Sambrook et al., Molecular Cloning: T A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Labs Press, 1989), que se incorpora en el presente documento como referencia. Las técnicas para detectar la inmunogenicidad, tales como la inmunogenicidad del antígeno patógeno o la actividad de la citocina son conocidas por los expertos en la técnica e incluyen varios ensayos in vitro e in vivo.

Los términos “marcador seleccionable” y “gen marcador seleccionable” se refieren a un gen que codifica un producto que protege al organismo en el que el gen se expresa a partir de un agente selectivo (por ejemplo, un antibiótico) o una afección que normalmente mataría al organismo o inhibiría su crecimiento. Los genes marcadores seleccionables suelen ser comúnmente genes de resistencia a antibióticos (por ejemplo, genes de resistencia a la kanamicina, genes de resistencia a la ampicilina, genes de resistencia al cloranfenicol, genes de resistencia a la tetraciclina, etc.). De esta forma, por ejemplo, cuando las células de E. coli se someten a un procedimiento de transformación para introducir un plásmido que codifica un gen de resistencia a la kanamicina y después se cultivan en medios que contienen kanamicina, sólo sobrevivirán las células de E. coli que captaron el plásmido y expresaron el gen de resistencia a la kanamicina. Los términos “marcador seleccionable” y “gen marcador seleccionable” también incluyen genes que codifican para enzimas que participan en la síntesis de un compuesto que es esencial para el crecimiento de un organismo. Cuando se introducen en un organismo auxotrópico que es incapaz de sintetizar el compuesto esencial, estos genes permiten que el organismo crezca en un medio que fue suplementado con el compuesto esencial. Por ejemplo, las células bacterianas que son auxotróficas para el aminoácido lisina debido a una mutación o ausencia de una enzima implicada en la biosíntesis de lisina normalmente no pueden crecer en medios que no han sido suplementados con lisina. Cuando dichas bacterias se someten a un procedimiento de transformación para introducir un plásmido que codifica la enzima que participa en la biosíntesis de lisina, las bacterias que captaron el plásmido y expresaron la enzima sobrevivirán si crecen en un medio que no fue suplementado con lisina. Los términos “marcador seleccionable” y “gen marcador seleccionable” incluyen además genes que permiten la selección de venenos/antídotos. Por ejemplo, el gen ccdB codifica una proteína que se une al ADN girasa, una enzima esencial para la división celular. Tras la unión al ADN girasa, el producto del gen ccdB altera la replicación génica e induce la muerte celular. Por lo tanto, la bacteria que expresa el producto del gen ccdB no puede sobrevivir. El gen ccdA codifica una proteína (el “antídoto”) que actúa como un inhibidor natural del producto del gen

ccdB. Por consiguiente, cuando las bacterias que tienen el gen ccdB en su genoma bacteriano se someten a un procedimiento de transformación para introducir un plásmido que codifica el producto del gen ccdA, sólo sobrevivirán las células que captan el plásmido y expresan el gen ccdA.

- 5 Los términos “marcador detectable” y “gen marcador detectable” se refieren a un gen que codifica un producto que permite que un observador distinga entre las células que expresan el gen marcador detectable y las células que no expresan el gen marcador detectable. Los sistemas de genes marcadores detectables son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, genes lacZ y genes que codifican proteínas fluorescentes tales como la proteína fluorescente verde (GFP), la proteína fluorescente amarilla (YFP), la proteína fluorescente roja (RFP), proteína fluorescente azul (BFP), o la proteína fluorescente cian (CFP).
- 10

Tabla 1: Secuencias de ADN plasmídico

Plásmido	ID SEC N°:	SECUENCIA
pMB75.6	1	ctaaattgtaagcgtaataattttgttaaaattcgcgtaaaattttgttaaatcagctcatttttaacca ataggccgaaatcggcaaaatccctataaatcaaaagaatagaccgagataggggtgagtg tgttccagtttgaacaagagtcactattaaagaacgtggactccaacgtcaaaggcgcaaa aaccgtctatcagggcgatggccactacgtgaaccatcacctaataagtttttggggcga ggtgccgtaaagcactaaatcggaaccctaaagggagccccgatttagagctgacggga aagccggcgaacgtggcgagaaaggaaggggaagaaagcgaaggagcgggcgctagg gcgctggcaagtgtagcgggtcacgtgcgcgtgaaccaccacacccgcccgcgttaatgcgc gctacagggcgctccattcgccattcaggctgcgaactgttgggaagggcgatcggtgcg ggctcttcgctattacgccagctggcgaaaggggagtgctgcaaggcgattaagttggga acgccagggtttccagtcacgacgttgtaaaacgacggccagtgagcgcgcgtaatacgac tcatatagggcgaattgggtaccgggccccctcgagcaggatctatacattgaatcaatatt ggcaattagccatattagtcattggtatataagcataaatcaatattggctattggccattgcatac ttgtatctatataataatgtacatttattggctcatgtccaatatgaccgcatgttgacattgatt attgactagttattaatagtaataacacggggtcattagttcatagcccatataggagttccgcg ttacataacttacggtaaatggccgcctggctgaccgccaacgacccccgcccattgacgtc aataatgacgtatgttccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagta ttacggtaaaactgccacttggcagtagcatcaagtgtatcatatgcaagtcgccccctattga cgtcaatgacggtaaatggccgcctggcattatgccagtagacgttacgggactttccta ctggcagtagacatctacgtattagtcacgtattaccatggtgatgcggtttggcagtagcatcaat gggcgtagtagcggttgactcacgggatttccaagtcacccccattgacgtcaatggga gttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgc aatgggtaggttagcggtgacgggtgggaggtctatataagcagagctcgttttagtaaccgtca gatcgctggagacgccatccacgtgtttgacctccatagaagacacggggaccgatccag cctccccctgaagccgatctgataacggtagcgataagctggcgccgattaagctacagaag ttggtcgtgaggcactgggcaggttaagtagtaaggttacaagacaggttaaggagaccaata gaaactgggctgtcgagacagagaagactctgcgttctgataggcacctattggtctactga catccactttgccttctctccacaggtgtccactcccaggtcaattacagctcttaagcagccgc aagcttgatcgaattcctgcagccgggggatccactagttctagagcgccgcccaccgcg gtggagctcgaattacagatcgattaataactatgctcaaaaattgtgtacctttagcttttaattg taaaggggttaataaggaatatttgatgtatagtccttgactagagatcataatcagccatacca cattgttagaggtttacttgcttataaaaacctcccacacctccccctgaacctgaaacataaaat gaatgcaattgtgtgttaactgtttattgcagcttataatgggtacaaataaagcaatagcatcac aaatttcacaaataaagcattttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctt

		atcatgtctggatcatcagatctgccggtctccctatagttagtctgatttaatttcgataagccaggt taacctgcattaatgaatcggccaacgcgcggggagaggcggttgcgtattgggcgctcttcc gttctctgctcactgactcgtcgcctcggctcgttcggctgcggcgagcggtatcagctcactca aaggcggtataacggttatccacagaatcaggggataacgcaggaagaacatgtgagcaa aaggccagcaaaaggccaggaaccgtaaaaaggccggttgctggcggttttccataggtcc gccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagttagaggtggcgaaacccgacag gactataaagataaccaggcggttccccctggaagctccctcgtcgcgtctcctgttccgaccctgc cgcttaccggatacctgtccgcctttctccctcgggaagcgtggcgctttctcatagctcacgctgt aggtatctcagttcgggttaggtcgttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaaccccccgctcag cccgaccgctgcgccttatccggttaactatcgtcttgagtccaacccggttaagacacgactatc gccactggcagcagccactggttaacaggattagcagagcgaggtatgtaggcggtgtctacag agttctgaagtgggtggcctaactacggctacactagaagaacagatttggatctgcgtctgct gaagccagttacctcggaaaaagagttggtagctctgtatccggcaaaacaaaccaccgctgg tagcgggtggtttttgtttgcaagcagcagattacgcgcagaaaaaaaggatctcaagaagatc ctttgatctttctacggggctgacgctcagtggaacgaaaactcacgttaagggattttggcatg agcgcgcctaggcttttgcaagatcgatcaagagacaggatgaggatcggttcgcatgattga acaagatggattgcacgcaggttctccggccgcttgggtggagaggctattcggctatgactgg gcacaacagacaatcggctgctctgatgccgcccgttccggctgtcagcgcagggggcgccc gttcttttgcagaccgacctgtccggtgccctgaatgaactgaagacgaggcagcgcggt atcgtggctggccacgacggggttccctgcgcagctgtgctcagcgtgtcactgaagcgggga agggactggctgtattggcgaaagtgcggggcaggatctcctgtcatctcaccttgcctcgc cgagaaagtatccatcatggctgatgaatgcggcggtgcatacgttgatccggctacctgc ccattcgaccaccaagcgaacatcgcatcgagcagcagctactcggatggaagccggtct tgtcatcaggatgatctggacgaagagcatcaggggctcgcgccagccgaactgttcgccag gctcaaggcgagcatgccgacggcgaggatctcgtcgtgacccatggcgatgcctgcttgc gaatatcatggtggaaaatggccgcttttctggattcatcgactgtggccggctgggtgtggcgga ccgctatcaggacatagcgttggctaccgtgatattgctgaagagcttggcgggcaatgggt gaccgcttctcgtgctttacggatcgcgcgtcccattcgcagcgcacgccttctatgccttctt gacgagttcttgagcgggactctggggctcgaaatgaccgaccaagcgacgccaacctgc catcacgagatttcgattccaccgccccttctatgaaaggttgggttcggaatcgtttccggga cgccggctggatgatcctccagcgcggggtatctcatgctggagttctcgcacccctaggcgc gctcatgagcggatacatattgaatgtatttagaaaaataaacaataagggggtccgcgcacat ttccccgaaaagtgccac
pGCMB75.6	2	tgaccgccaacgacccccgccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgcaa tagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgccacttggcagtacatc aagtgtatcatatgccaagtccgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccgcctggcat tatgcccagtacatgaccttacgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcacgtatt accatgggtgatgcgggttttggcagtacatcaatgggctggatagcgggttgactcacggggattt ccaagctccacccattgacgtcaatgggagttgttttggcaccaaaaataacagggactttcca aatgtcgttaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacgttgggagggtc tatataagcagagctcgttttagtgaaccgtcagatcgcttgagagcgcacatccacgctgtttgac ctccatagaagacaccgggaccgatccagcctcccctcgaagccgatctgataacggtaccg ataagctggcgccgattaagctacagaagttggtcgtgaggcactgggcaggttaagtatcaa ggtacaagacagggttaaggagaccaatagaaactgggcttgcagacagagaagactctt gcgtttctgataggcacctattggttactgacatccactttgccttctcctcacagggttccactcc caggttcaattacagctcttaagcagccgaagcttgatacgaattcctgcagcccgggggtatc cactagttctagagcggccgccaccgcggtggagctcgaattatcagatcgattaataactatgc tcaaaaattgtgtaccttttagcttttaattgtaaaggggttaataaggaatatttgatgtatagtc ttgactagagatcataatcagccataccacattttagaggttttacttgctttaaaaaacctcca cacctccccctgaacctgaaacataaaatgaatgcaattgttgttgaactgtttattgcagcttat

	aatggtacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttctactgcattcta gttgtggttgcctaaactcatcaatgtatcttatcatgtctggatcatcagatctgccggtctccctat agtgagtcgtattaatttcgataagccagggttaacctgcattaatgaatcggccaacgcgcgggg agaggcgggttgcgtattggcgctcttccgcttctcgtcactgactcgtcgcgtcggctcgttcg gctgcggcgagcggtatcagctcactcaaaggcggtataacgggtatccacagaatcagggg ataacgcaggaaagaacatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccaggaaccgtaaaaa ggccgcgttgcgtggcggttttccatagggtccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgt caagtcagaggtggcgaaacccgacaggactataaagataaccaggcggttccccctggaagc tccctcgtgcgtctcctgttccgaccctgccgcttaccggataacctgtccgcttctccctcggg aagcgtggcgcttctcatagctcagcgtgtaggtatctcagttcgggtgtaggtcgtcgtccaag ctgggctgtgtgcacgaacccccgttcagcccgaccgctgcgccttatccggttaactatcgtctt gaggccaacccggttaagacacgacttatcgccactggcagcagccactggttaacaggattag cagagcgaggtatgtaggcggtgtacagagttctgaagtgggtggcctaactacggctacact agaagaacagtatgttggtatctgcgtctcgtgaagccagttaccttcggaaaaagagttgtag ctcttgatccggcaaacaaaccaccgctggtagcgggtgtttttgttgcaagcagcagattac gcgcagaaaaaaaggatctcaagaagatccttgatcttttctacgggggtcgcgctcagtgga acgaaaactcacgttaagggtatttgggtcatggcgcgccctaggcttttgcaagatcgatcaag agacaggatgaggtatcgttgcagctttcattctgactgcaacgggcaataagctctgtgtgg attaaaaaagagtgctgatagcagcttctgaactgggtacctgccgtgagtaaaattaaatttta ttgacttaggtcactaaggcgcttgcgtgaggtgctcgtgatacatcagggcagaccggtt acatccccctaacaagctgtataaagagaaatactatctcattggcggttggccgcacctgacagt gcgacgttgggtgcgtccgtcgaccaacgggtaccgaggttaacagcccaatctatccatgatct cggccaggccgggtcggccgttatgcagcccggtcgggtatgaagccattaaggagccgac ccagcgcgaccgggcccgggtcacgctgcctctgctgaagcctgctcactccctgcgcg gcgtacccgcccgttctcatcagtagggtccggatcgcgaccccgacggggccctggggcca ggagcggcctatgacaaatgccgggtagcgtatccggcattcagcattgactgcgcagggatcc agtccctgcaggagccttatgccgaccgtagcaaaaaatgagcccgagccgatcgcgagttgt gatccggtcccgcggttgcgggtcgcgatgacgggtcctgtgtaagcggtatcgttaccattgtt aagaagtatacgtacgaggtacttgataacttctcgttagcatacatgaggtttgtataaaa atggcgggcgatatcaacgcaggtgcagaaatccgaaacagctcgcgggactctgggggtcga aatgaccgaccaagcgacgccaacctgccatcacgagatttcgattccaccgcccgttctat gaaaggttgggcttcggaatcgttttccgggacgcccgttgatgatcctccagcgcggggatc tcatgtggagttcttgcgccaccctaggcgctcatgagcggatacatattgaatgtatttaga aaaataaacaatataggggttcgcgcacatttccccgaaaagtgccacctaaattgaagcgtt aatattttgttaaaattcgcgttaaaattttgttaaatcagctcatttttaaccaataggccgaaatcg gcaaaatccctataaatcaaaagaatagaccgagatagggttagtggtgttccagtttgaac aagagtcactattaaagaacgtggactccaacgtcaaaggcgaaaaaccgtctatcaggg cgtatggccactacgtgaaccatcacccctaatcaagttttggggtcgaggtgccgtaaagcac taaatcggaaccctaaaggagcccccgatttagagcttgacggggaaagccggcgaaacgt ggcgagaaaggaagggaagaaagcgaaaggagcgggctagggcgctggcaagtgtg gcggtcacgctgcggttaaccaccacaccgcccgcgttaatgcgccgtacagggcgcgctc ccattcgcattcaggctgcgcaactgttgggaaggcgatcgggtcgggctcttcgctattac gccagctggcgaaaggggatgtgctgcaaggcgattaagtgggtaacgccagggtttccc agtcacgacgttgtaaacgacggccagtgagcgcgcgtaatacgaactactatagggcgaa ttgggtaccggggccccctcgcagcaggatctatacattgaatcaatattggcaattagccatatt agtcattggttatatagcataaatcaatattggctattggccattgcatacgttgatctatcataat atgtacatttatattggctcatgtccaatatgaccgcatgttgacattgattatgactagttattaat agtaatcaattacggggctcattagttcatagcccatatatggagttccgcgttacataactacggt aatggccccgcctggc
--	---

pLacZMB75.6	3	tgaccgccccaacgacccccgccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgcaa tagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgccacttggcagtacatc aagtgtatcatatgccaagtcgccccctattgacgtcaatgacggtaaattggccgcctggcat tatgccagtacatgaccttacgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcacgtatt accatgggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggctggatagcggtttgactcacggggattt ccaagtctccacccattgacgtcaatgggagttgtttggcaccaaaatcaacgggactttcca aatgtcgtaaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggagggtc tatataagcagagctcgtttagtgaaaccgtcagatcgctggagacgccatccacgctgtttgac ctccatagaagacaccgggaccgatccagcctcccctcgaagccgatctgataacggtaccg ataagctggcgccgattaagctacagaagttggtcgtgaggcactgggcaggttaagtatcaa ggtacaagacaggtttaaggagaccaatagaaactgggcttgcgagacagagaagactctt gcgttctgataggcacctattggttactgacatccactttgccttctccacagggtccactcc caggttcaattacagctcttaagcagcgcgcaaaaacaaattcctcaaaaatcatcatcgaatg aatgggtgaataatttccctgaataactgtagtgtttcagggcgcggcataataattaactatgt caaaaattgtgtaccttttagcttttaattgtaaaggggttaataaggaatatttgatgtatagtcct tgactagagatcataatcagccataccacatttgtagaggtttactgtttaaaaaacctcccac acctccccctgaacctgaacataaaaatgaatgcaattgtgtgttaactgtttattgcagcttata atgggtacaaaataagcaatagcatcacaatttcacaaataaagcattttttcactgcattctagt tgtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttatcatgtctggatcatcagatctgccggtctccctatag tgagtcgtattaatttcgataagccagggttaacctgcattaatgaatcggccaacgcgcggggag aggcggtttgcgtattggcgctcttccgcttctcgtcactgactcgtcgcctcggtcgttcggc tgcggcgagcgggtatcagctcactcaaaggcggttaatacgggtatccacagaatcaggggata acgcaggaaagaacatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccaggaaccgtaaaaaggc cgcttgcgtggcgttttccataggctccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaa gtcagagggtggcgaaacccgacaggactataaagataaccaggcgtttccccttgaagctcc ctgctgcgtctcctgttccgacctgcccgttaccggataacctgtccgcctttctcccttcgggaag cgtggcgctttctcatagctcacgctgtaggtatctcagttcggtgtaggctcgttcgctccaagctgg gctgtgtgcacgaaccccccttcagcccagccgtgcccctatccggtaactatcgtcttgagt ccaacccggttaagacacgacttatcgccactggcagcagccactggttaacaggattagcaga gcgaggtatgtaggcgggtgtacagagttctgaagtgggtggcctaactacggctacactagaa gaacagtatttggtatctgcgtctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttggtagctctg atccggcaaaacaaaccacgctggttagcgggtggtttttgtttgcaagcagcagattacgcgca gaaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatctttctacggggtctgacgctcagtgaacgaa aactcacgttaagggtatttggatcgtggcgccctaggcttttgcaagatcgatcaagagaca ggtatgaggatcgtttcgagcttttcttctgactgcaacggggcaataagtcctgtgtgtgattaaa aaaagagtgctgatagcagcttctgaactgggttacctgccgtgagtaaattaaaaatttattgactt aggtcactaaggcgcttgcgtgaggttgctgctgatatcatcagggcagaccggttacatcc ccctaacaagctgtataaagagaaatactatctcattggcgttggccgacactgacagtgcgac gttgggctgcgtccgtcgaccaacgggtaccgaggttaacagcccaatctatccatgatctcggcc aggcgggttcggccgttatgcagcccggtcgggtatgaagccattaaggagccgaccagc gcgaccgggcgccgggtcacgctgcctctgctgaagcctgcctgtcactccctgcgcggcgta cccgccgttctcatcgagttaggtccggatcgcgaccccgacgggcccctgggcccaggagc ggccatgacaaatgccgggtagcgatccggcattcagcattgactgcgcacggatccagtcct tgcaggagccttatgccgaccgtagcaaaaaatgagcccagccgatcgcgagttgtatccg gtcccgcgattgccgggtcgcgatgacggtcctgtgtaagcgttatcggtaccaattgttaagaa gtatatacgctacgaggtacttgataacttctgcgtagcatataggtttgtataaaaaatggcg ggcgatatcaacgcagtgctagaaatccgaaacagctctgcgggactctgggggtcgaaatgac cgaccaagcgacgccaacctgccatcacgagatttcgattccaccgcccgttctatgaaag gttgggcttcggaatcgtttccgggacgcccggctggatgatcctccagcgcggggatctcatgct ggagttctcggccaccctaggcgcgctcatgagcggatacatattgaatgtatttagaaaaata aacaaataggggttcgcgcacatttccccgaaaagtgccacctaattgtaagcgttaattttt
-------------	---	--

	gttaaaattcgcgttaaattttgttaaatacagctcatttttaaccaataggccgaaatcggcaaaa tcccttataaatcaaaagaatagaccgagataggggtgagtggtgtccagtttggaacaagagt ccactattaaagaacgtggactccaacgtcaaagggcgaaaaaccgtctatcagggcgatgg ccactacgtgaaccatcacctaataagttttggggcgaggtgccgtaaaagcactaaatc ggaaccctaaagggagccccgatttagagcttgacggggaaagccggcgaaacgtggcga gaaaggaaggggaagaaagcgaaaggagcgggcgctagggcgctggcaagtgtagcgggtc acgtgcgcgtaaccaccacacccgcccgcgctaatacgccgctacagggcgcgctccattcg ccattcagggtgacgaactgttggaagggcgatcggtgcccgtctctcgctattacgccagct ggcgaaaggggatgtgctgcaaggcgattaagtgggtaacgccaggggtttccagtcacg acgtgtaaaacgacggccagtgagcgcgtaatacgaactactatagggcgaaattgggtac cggggccccctcgaggtcgacggtatcgataagcttgatcgaaattcctgcagcccggggg atccactagtctagagcgccgcccaccggtggagctccagctttgtcccttagtgaggggt aattgcgcgctggcgtaatacatggtcatagctgttctgtgtgaaattgtatccgctcacaattcc acacaacatacgagccggaagcataaagtgtaaagcctgggggtgcctaatagtgagctaac tcacattaattgcgttgccg
--	--

EJEMPLOS

El siguiente ejemplo ilustra varias formas de realización de la invención.

5 **Ejemplo 1: La eficacia de la composición del inmunomodulador en el aumento de los porcentajes de concepción en vacas no cíclicas**

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la función inmunológica moduladora en el parto en los resultados reproductivos de las vacas tratadas.

Inmunomodulador

10 El inmunomodulador utilizado en este estudio fue la composición descrita anteriormente en el Ejemplo 1.

Animales de estudio

15 Se obtuvieron 875 vacas Frisona, Jersey o cruzadas de ≥ 2 años de edad procedentes de dos establecimientos lecheros comerciales A y B en el distrito de Waikato, Nueva Zelanda. Las vacas se seleccionaron en base a recién nacidos y lactantes. Se excluyeron las vacas si fueron tratadas con antibióticos, antiinflamatorios no esteroideos o corticosteroides en los 30 días previos al parto o si presentaron pruebas evidentes de cualquier enfermedad durante el parto. Los animales restantes se bloquearon por edad (vaquillonas versus vacas) y se asignaron dentro de pares secuenciales de animales presentados a partir de listas de distribución de aleatorización pre-preparadas a los grupos de tratamiento o de placebo.

20 *Tratamiento*

25 El tratamiento se asignó al azar y la asignación al tratamiento no se incluyó en ninguna de las hojas de muestreo posteriores al tratamiento y las muestras de leche se asignaron a un número único en el momento de la adhesión que se utilizó durante los análisis de laboratorio posteriores. El día del parto (día 0) y después del examen físico y la inscripción, se administró el tratamiento apropiado por inyección intramuscular en el músculo del glúteo derecho. Se limpió el lugar de la inyección con algodón humedecido en alcohol metilado al 70% antes de la inyección. El tratamiento se repitió en la noche del día 3 o en la mañana del

día 4 y nuevamente al día 7 después del parto con inyección en los músculos del glúteo derecho.

Gestión de la reproducción

Se aplicó pintura en la cola (una ayuda para la detección del celo) aproximadamente 30 días antes del inicio planeado del programa de reproducción. Las vacas cuyo celo no se detectó mediante observación o por remoción de la pintura de la cola fueron tratadas con una combinación de progesterona, GnRH y prostaglandina $F_{2\alpha}$ y fueron criadas para establecer la inseminación artificial a tiempo. Durante los primeros 37 días en el sitio de la Granja A y 47 días en el sitio de la Granja B, las vacas cuyo celo se detectó en celo permanente se criaron mediante inseminación artificial. A partir de entonces los toros intactos se dejaron con el rebaño. La duración total del período de apareamiento fue de 77 y 80 días en las granjas A y B, respectivamente. Se observó a las vacas por ultrasonografía transrectal a los 83 y 113 días después del inicio del programa de reproducción (Granja A) y 90 y 120 días después de este inicio del programa de reproducción (Granja B). Las vacas en las que se detectó preñez, estaban en la etapa de gestación estimada. Cuando la etapa estimada de la gestación se encontró dentro de los 7 días de la reproducción registrada, ya sea por inseminación artificial o por monta natural, la fecha registrada fue aceptada como el día de la concepción.

Resultados

Se calculó el porcentaje de presentación de tres semanas (la proporción de vacas detectadas e inseminadas en el transcurso de tres semanas al inicio del programa de reproducción), el porcentaje de concepción al primer servicio (la proporción de vacas criadas para inseminación artificial que concibieron en la primera inseminación) y el porcentaje de 3 y 6 semanas en terneros (la proporción de vacas con preñez confirmada en las primeras tres y seis semanas del programa de reproducción) y el porcentaje de preñez final.

Los resultados reproductivos binomiales se analizaron inicialmente en análisis bivariados (chi cuadrado). Se realizaron modelos de regresión logística multivariable, entre los que se incluyeron las variables explicativas del tratamiento, el rebaño, la edad (2, 3 y > 3 años), los días en leche al inicio del programa de reproducción (clasificados como 50 a 71 días y ≥ 72 días) y la raza (Frisona frente a otras razas). Además, se calculó el inicio previsto del intervalo de apareamiento hasta la concepción para cada vaca y se utilizó el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier para calcular la mediana de los días hasta la concepción.

Los grupos de tratamiento se equilibraron para el código de la raza y la edad y se calcularon los valores p usando una prueba de chi cuadrado, como lo indica la Tabla 1.

Tabla 1: Cantidad de vacas en los grupos tratados y de control según el código de raza y de edad

	<i>Tratadas</i>	<i>Control</i>	<i>Valor p</i>
Grupo etéreo			
2 años	79	73	0,62
3 años	91	82	0,48
≥ 4 años	267	279	0,33

Total	437	434	---
Raza			
Frisona	245	258	0,29
Jersey	6	6	1,00*
Cruza de raza	186	169	0,29
Total	437	433	---

*El valor P se calculó usando la prueba exacta de Fisher.

Además, la media y la mediana del tiempo desde el parto hasta el inicio previsto del apareamiento fue la misma entre los grupos de tratamiento y de control, como se indica en la Tabla 2. El valor de P que compara los días de la mediana a partir del parto con el inicio previsto del apareamiento de los grupos de tratamiento y de control se calculó usando una prueba de Mann-Whitney.

Tabla 2: Media, error estándar (SE) y mediana de días desde el parto hasta el inicio del programa de reproducción de vacas en los grupos tratado y de control

	<i>n</i>	<i>Media</i>	<i>SE</i>	<i>Mediana</i>	<i>Valor p</i>
Tratadas	437	72,4	0,43	75	0,92
Control	434	72,4	0,43	75	

Como lo indica la Tabla 3, no hubo diferencias entre los grupos de tratamiento y control para la probabilidad de presentación a la inseminación artificial en 21 días después del inicio previsto del apareamiento (PSM) (presentación en 3 semanas), probabilidad de concepción a la primera inseminación después de PSM (Concepción al primer servicio), probabilidad de preñez a los 21 y 42 días (preñadas en 3 semanas y preñadas en 6 semanas, respectivamente) después de PSM y preñez general en el nivel bivariado. Los valores P se calcularon usando una prueba de chi cuadrado.

Tabla 3: Cantidad (%) de vacas por grupos de tratamiento

			Tratadas (%)	Control (%)	Valor p
Tratadas cíclicas	como no		75/437 (17,2)	91/434 (21,0)	0,15
Presentación en 3 semanas	en 3		383/432 (88,7)	394/430 (91,6)	0,14
Concepción al 1er servicio	al 1er		263/383 (68,7)	254/394 (64,5)	0,21
Preñadas en 3 semanas	en 3		273/432 (63,2)	260/430 (60,5)	0,41
Preñadas en 6 semanas	en 6		344/432 (79,6)	327/430 (76,0)	0,21

semanas			
Preñadas en general	384/432 (88,9)	383/430 (89,1)	0,93

- En un análisis de regresión multivariable que controló los efectos modificadores potenciales, incluyendo la raza (Holstein, Jersey y cruzada), la edad (2, 3 y 4 + años), el rebaño (1 y 2), la actividad cíclica ovárica (cíclica y no cíclica en base a la inserción de un dispositivo CIDR) y tiempo desde el parto al PSM (50 a 71 días y ≥ 72 días), hubo una mayor probabilidad de concepción al primer servicio y preñez en 3 semanas para las vacas no cíclicas en el grupo tratado en comparación con sus equivalentes del grupo de control. **FIG. 4A** muestra un gráfico de la probabilidad (medias marginales estimadas y error estándar de la media (SEM)) de la concepción a la primera inseminación y **FIG. 4B** muestra la probabilidad (medias marginales estimadas y SEM) de preñez en el transcurso de 3 semanas después del comienzo planeado del programa de reproducción para vacas cíclicas y no cíclicas por grupos de tratamiento. El asterisco indica una diferencia entre los tratamientos dentro del grupo no cíclico. El tiempo mediano desde PSM hasta la preñez fue de 15 y 16 días para los grupos tratados y de control respectivamente ($P = 0,27$).
- Del punto de vista numérico, la cantidad de vacas tratadas concebidas al primer servicio (69 % frente al 65 %) que quedaron preñadas a las tres (63 % frente al 61 %) y seis semanas (80 % frente al 76 %) fue mayor que la de los controles no tratados. Hubo un tratamiento mediante interacción del estado no cíclico por el cual entre las vacas diagnosticadas con celo no detectado y tratadas por esta afección, las vacas tratadas tuvieron un mayor porcentaje de concepción al primer servicio y una mayor proporción de preñez a las tres semanas en el programa de reproducción.



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2019/0000724

Recibo: 20-90112

Fecha: 09/11/2020

CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO

CC: 66.783.790

Pago PSE No: 463352

CUS: 794977706

Patente PCT

UNA COMPOSICIÓN INMUNOMODULADORA QUE COMPRENDE UN VEHÍCULO DE ADMINISTRACIÓN DE LIPOSOMAS CATIÓNICOS Y UNA MOLÉCULA DE ÁCIDO NUCLEÍCO DERIVADA DE BACTERIAS AISLADAS QUE NO CODIFICA PARA UN INMUNÓGENO

Detalle del pago

Id.	Rentístico	Concepto y Servicio	Cant.	Val. Unit.	Subtotal
1	50005-01-03	Modificaciones / Correcciones al registro Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	\$ 167,000	\$ 167,000
2	50005-01-01	Solicitud examen de patentabilidad Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	\$ 1,133,000	\$ 1,133,000
TOTAL					\$ 1,300,000