

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 940 650**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.09.2018** **PCT/US2018/049451**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.03.2019** **WO19055259**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.09.2018** **E 18782826 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.01.2023** **EP 3681910**

54 Título: **Péptidos del receptor 2 de interleucina-10, anticuerpos, composiciones y métodos de uso de los mismos**

30 Prioridad:

12.09.2017 US 201762557443 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.05.2023

73 Titular/es:

**WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION
(100.0%)
614 Walnut Street, 13th Floor
Madison, WI 53726, US**

72 Inventor/es:

ARENDT, MARIA K.

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 940 650 T3

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

DESCRIPCIÓN

Péptidos del receptor 2 de interleucina-10, anticuerpos, composiciones y métodos de uso de los mismos

5 Campo de la divulgación

La presente divulgación se relaciona con los péptidos del receptor 2 de la interleucina-10, los anticuerpos que se unen a los péptidos y su uso para reducir los patógenos transmitidos por alimentos y ambientales en los intestinos de un sujeto que los necesite.

10

Antecedentes

Los patógenos transmitidos por alimentos y ambientales pueden ser consumidos por humanos y animales, dando como resultado síntomas tales como diarrea e infección intestinal. Las enfermedades zoonóticas asociadas con las especies de Salmonella, por ejemplo, se transmiten a los humanos al ingerir animales infectados, tales como aves de corral, o productos de origen animal, tales como la leche. Además, los patógenos transmitidos por alimentos y ambientales dan como resultado la supresión del crecimiento y la enfermedad en los animales criados para la producción de alimentos, así como en los animales domésticos.

15

20

La coccidiosis, por ejemplo, es una infección protozoaria común en especies de ganado (por ejemplo, aves de corral, cerdos y terneros). Se estima que la coccidiosis solo en las aves de corral le cuesta a la industria avícola \$ 1 mil millones al año en la reducción del rendimiento animal. Los dos enfoques para controlar la coccidiosis son el uso de fármacos para prevenir y tratar la coccidiosis o vacunar a las aves con una vacuna atenuada contra la coccidiosis. Sin embargo, la vacuna también suprime el rendimiento animal. Por consiguiente, se desea un aditivo que reduzca la coccidiosis mientras minimiza la depresión del crecimiento durante la infección por coccidiosis o la vacunación.

25

Previamente, se identificaron los péptidos correspondientes a las regiones expuestas al disolvente antigénico de IL-10. Se demostró que los anticuerpos específicos anti-interleucina-10 que se unen a los péptidos reducen los protozoos gastrointestinales tales como los coccidios en animales tales como las aves de corral (la Patente de EE. UU. No. 9,505,836); reducir la Salmonella en los intestinos de animales tales como las aves de corral (la Publicación de EE. UU. No. 2015/0313964); controlar gusanos parásitos en el intestino de mamíferos herbívoros tales como los bovinos (la Publicación de EE. UU. No. 2016/0008436); y reducir los síntomas de enfermedades respiratorias en mamíferos alimentados con leche antes del destete (la Publicación de EE. UU. No. 2016/0280778).

30

35

El documento US 2014/017248 A1 describe péptidos de interleucina-10 (IL-10) y anticuerpos aislados que se unen específicamente a los péptidos de IL-10. Como se divulga en este, los péptidos de IL-10 y los anticuerpos aislados pueden administrarse solos o como un aditivo para piensos para animales para tratar la infección gastrointestinal por protozoos en animales.

40

Lo que se necesita son composiciones y métodos alternativos para reducir los patógenos ambientales o transmitidos por los alimentos en los intestinos de un sujeto que lo necesite.

Breve resumen

45

En un aspecto, la invención proporciona un péptido del receptor 2 de la interleucina-10 unido covalentemente a un péptido portador, en el que el péptido del receptor 2 de la interleucina-10 consiste en una secuencia de 8-15 aminoácidos que incluye una cualquiera de SEQ ID Nos: 4-31.

50

En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a un péptido del receptor 2 de la interleucina-10, en el que el péptido del receptor 2 de la interleucina-10 consiste en una secuencia de 8-15 aminoácidos que incluye una cualquiera de SEQ ID NOs: 4-31.

55

En otro aspecto más, la invención proporciona una yema de huevo deshidratada que comprende un anticuerpo que se une específicamente a un péptido del receptor 2 de la interleucina-10, en la que el péptido del receptor 2 de la interleucina-10 consiste en una secuencia de 8-15 aminoácidos que incluye una cualquiera de SEQ ID NOs: 4-31, en la que el anticuerpo que se une específicamente al péptido del receptor 2 de la interleucina-10 en la yema de huevo comprende un total del 1 al 10 % en peso de la IgY total en la yema de huevo.

60

En un aspecto, se incluyen composiciones que comprenden los anticuerpos aislados y yema de huevo deshidratada, tales como aditivos para alimentos y piensos y composiciones para alimentos y piensos.

65

En otro aspecto, la invención proporciona tal composición para su uso en un método de reducción de un patógeno transmitido por alimentos o ambiental en los intestinos de un sujeto que lo necesite, comprendiendo dicho método administrar al sujeto dicha composición, en la que el anticuerpo aislado es administrado en una cantidad eficaz para reducir el patógeno transmitido por alimentos o ambiental en los intestinos del sujeto.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra las diferencias en el peso medio de los pollitos no infectados frente a los infectados a la edad de 21 días. Las medias A-B con diferentes etiquetas dentro de una columna fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$). La diferencia en el peso medio de los pollitos se calculó restando los pesos medios de los pollitos no infectados - infectados con coccidios y se midieron en gramos.

Las características descritas anteriormente y otras serán apreciadas y comprendidas por los expertos en la técnica a partir de la siguiente descripción detallada, los dibujos y las reivindicaciones adjuntas.

Descripción detallada

Se han descrito anticuerpos que se unen específicamente a la interleucina-10 (IL-10) y reducen los patógenos transmitidos por alimentos y ambientales en los intestinos de los sujetos y son muy adecuados para su propósito previsto. Sin embargo, es posible que los anticuerpos anti-IL-10 puedan interferir con otras funciones además de la unión al receptor de IL-10. De manera ventajosa, la orientación del receptor de IL-10 podría interferir no solo con la unión de IL-10, sino también con la unión de imitadores de IL-10 tales como virus que expresan IL-10. De este modo, los anticuerpos que se unen a los receptores de IL-10 pueden tener ventajas sobre los anticuerpos que se unen a los péptidos de IL-10.

Inesperadamente, se encontró que los anticuerpos anti-IL-10-receptor-2 (IL-10 R2; también conocidos como IL-10 R beta (β), pero no los anticuerpos anti-IL-10 receptor-1 (IL-10 R1; también conocido como IL-10 R alfa (α)) mejoró la ganancia de peso frente a una infección por *Coccidia* en pollos. Se ha demostrado que IL-10 R1 reside en la superficie apical de los enterocitos, de este modo se esperaba que el bloqueo de este receptor proporcionaría efectos similares a los anticuerpos anti-IL-10. No se ha descrito la ubicación de IL-10 R2 en los intestinos. Además, IL-10 R1 tiene una mayor afinidad por IL-10 que IL-10 R2. De este modo, fue completamente inesperado que los anticuerpos anti-IL10 R2 y no los anticuerpos anti-IL-10 R1 reduzcan los patógenos transmitidos por alimentos y ambientales en los intestinos de los sujetos.

Los péptidos de IL-10 R2 de uso en la invención se identificaron examinando la estructura cristalina de IL-10 unida a IL-10 R2 y seleccionando péptidos de IL-10 R2 en la interfaz de unión. De este modo, en un aspecto, la invención proporciona un péptido IL-10 R2 que consiste en una secuencia de 8-15 aminoácidos que incluye una cualquiera de SEQ ID NOs: 4-31 (Tabla 1) y unida covalentemente a un péptido portador. Dichos péptidos IL-10 R2 pueden estar representados por las siguientes secuencias consenso: (i) SEQ ID NO: 1 ((I/V)P(P/K/V/E)P(E/K/R/Q)N(A/V)R); (ii) SEQ ID NO: 2 ((S/L/V)PAF(A/P)(K/Q)(G/T/E)(N/T/D)); o (iii) SEQ ID NO: 3 (PP(G/T/Q/V)(V/T/A)(R/H/T/S)(G/N/K)(GN/NHP/SAA)).

Tabla 1: Secuencias peptídicas de IL-10-R2

Especies	Péptido homólogo IL-10 R2:1	SEQ ID NO:	Péptido homólogo IL-10 R2:2	SEQ ID NO:
Homo sapiens, P. troglodytes, M. mulatta	VPPPENVR	4	SPAFKGN	18
Canis lupus	VPPPKNVR	5	LPAFPKGT	19
Felis catus	VPPPENVR	6	VPAFPKGN	20
Bos taurus	VPPPENVR	7	SPAFPKGN	21
Ovis aries	IPPPENVR	8	SPAFPKGN	22
Capra hircus	IPPPENVR	9	SPAFPKGN	23
Equus caballus	VPPPENVR	10	SPAFPKGD	24
Sus scrofa	VPPPENVR	11	SPAFQGD	25
Mus musculus	IPPEKVR	12	VPAFPKTN	26
Rattus norvegicus	IPPPENVR	13	VPAFPKEN	27
Gallus Gallus	VPKPRNAR	14	PPGVRKGN	28
Meleagris gallopavo	VPKPRNAR	15	PPTVHKGN	29
Danio rerio	VPVPENVR	16	PPQTTNNHP	30
Xenopus tropicalis	VPEPQNV	17	PPVASGSAA	31

En particular, los péptidos de SEQ ID NOs: 4-17 pueden estar todos representados por la secuencia consenso de SEQ ID NO: 1; SEQ ID NOs: 18-27 pueden estar todas representadas por la secuencia consenso de SEQ ID NO: 2; y SEQ ID NOs: 28-31 pueden estar todas representadas por la secuencia consenso de SEQ ID NO: 3.

De acuerdo con la invención, el péptido IL-10 R2 puede conjugarse con gamma globulina bovina o hemocianina de lapa californiana.

Como se usa en este documento, el término "péptido" incluye el péptido así como las sales farmacéuticamente aceptables del péptido. "Residuo de aminoácido" significa las unidades de aminoácidos individuales incorporadas en los péptidos de la divulgación. Como se usa en este documento, el término "aminoácido" significa un aminoácido de origen natural o sintético, así como análogos de aminoácidos, estereoisómeros y miméticos de aminoácidos que funcionan de manera similar a los aminoácidos de origen natural.

Como se usa en este documento, el término "anticuerpo" o "inmunoglobulina" abarca anticuerpos de origen natural, tales como anticuerpos policlonales y monoclonales, así como anticuerpos artificiales o sintéticos o formas de anticuerpos modificados genéticamente, incluidos anticuerpos de cadena sencilla, quiméricos, y anticuerpos bifuncionales, así como fragmentos de los mismos.

El término "anticuerpo aislado", como se usa en este documento, se refiere a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otras moléculas asociadas naturalmente, o sustancialmente libre de anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un anticuerpo aislado que se une específicamente a un péptido IL-10 R2, en el que el péptido IL-10 R2 consiste en una secuencia de 8-15 aminoácidos que incluye una cualquiera de SEQ ID Nos. 4-31.

En realizaciones preferidas, el anticuerpo aislado es un anticuerpo IgY.

En un aspecto adicional, la invención proporciona una yema de huevo deshidratada que comprende un anticuerpo que se une específicamente a un péptido IL-10 R2, en la que el péptido IL-10 R2 consiste en una secuencia de 8-15 aminoácidos que incluye una cualquiera de SEQ ID NOs. 4-31, en la que el anticuerpo que se une específicamente a un péptido IL-10 R2 en la yema de huevo comprende un total de 1 a 10 % en peso de la IgY total en la yema de huevo.

En determinadas realizaciones, el contenido de agua de la yema de huevo aviar seca es inferior al 5 % en peso del peso total de la yema de huevo aviar deshidratada.

La presente divulgación está dirigida además a generar anticuerpos que se unan específicamente a los péptidos IL-10 R2 de uso en la invención. En un ejemplo, se genera un anticuerpo administrando a un animal los péptidos IL-10 R2 de uso en la invención descritos anteriormente. Los animales apropiados para administrar los péptidos IL-10 R2 para generar los anticuerpos incluyen, por ejemplo, aves de corral. Las aves de corral de ejemplo incluyen pollos, pavos, patos, codornices y faisanes. Las aves de corral específicas incluyen pavos y pollos. Los animales adicionales incluyen animales de ganado tales como vacas, cerdos, ovejas y peces.

Los métodos de ejemplo para administrar los péptidos IL-10 R2 al animal incluyen inyección y administración oral. La inyección y la administración oral incluyen opcionalmente el uso de un adyuvante tal como, por ejemplo, el adyuvante completo de Freund y la toxina del cólera. La administración opcionalmente incluye además la conjugación del péptido IL-10 R2 con una proteína portadora tal como, por ejemplo, gammaglobulina bovina o hemocianina de lapa californiana.

En un ejemplo, los anticuerpos contra los péptidos IL-10 R2 de uso en la invención son generados por un animal (denominado en este documento como el "animal productor"). Cuando el animal es un animal aviar, como saben los expertos en la técnica, los anticuerpos generados pasan al huevo, se pueden concentrar específicamente en la yema de huevo del animal productor aviar. Alternativamente, los anticuerpos de la presente divulgación pueden aislarse del propio animal, tal como del suero.

En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo de yema de huevo aviar. Las yemas de huevo derivadas de una gallina ponedora son económicas, convenientes y pueden ser más seguras de manipular en comparación con los sueros de mamíferos hiperinmunizados. Además, los anticuerpos de la yema de huevo pueden resistir el escrutinio bajo las normas modernas de protección animal. La inmunoglobulina Y (IgY) es una inmunoglobulina aviar.

Para producir los anticuerpos de yema de huevo aviar de uso en la invención, los péptidos IL-10 R2 de uso en la invención se inyectan en aves ponedoras, tales como gallinas, preferiblemente a diversos intervalos, para inducir una respuesta inmunitaria. Las gallinas pueden inyectarse por vía intramuscular o subcutánea. El modo específico de inyección no es esencial. Es bien sabido que los anticuerpos IgY producidos por las gallinas en respuesta a dicho desafío inmunológico se transfieren y concentran en la yema de huevo.

Una vez que se recolectan los huevos, los huevos pueden procesarse adicionalmente para aislar la yema de huevo, que a su vez puede procesarse adicionalmente. La yema de huevo líquida se puede encapsular o usar de otro modo en formas de dosificación oral. La yema de huevo se puede secar mediante métodos de secado por pulverización o refractarios, y el polvo seco resultante se puede encapsular o usar de otro modo en formas de dosificación oral.

Alternativamente, se puede llevar a cabo un procedimiento de purificación o fraccionamiento parcial para eliminar la mayoría de las biomoléculas y gránulos no acuosos y, opcionalmente, la mayoría de otras proteínas en la yema de huevo. Las técnicas de purificación de ejemplo, incluyen el uso de PEG, sulfato de dextrano o una goma natural, tal como alginato de sodio, carragenano y goma xantana, para coprecipitar las sustancias no deseadas, y el uso de una solución reguladora acuosa o agua para obtener una fase acuosa rica en anticuerpos.

En un ejemplo específico, la yema se separa de la clara de huevo y luego se lava con agua destilada para eliminar la mayor cantidad posible de albúmina. La membrana vitelina que reviste la yema se perfora y la fracción de yema separada se diluye luego con una cantidad eficaz de una solución reguladora acuosa o agua para formar una suspensión de la yema de huevo. La yema de huevo recogida se puede diluir con una solución reguladora acuosa o agua destilada en una proporción de aproximadamente 1:2 a 1:40 v/v, y más específicamente, en una proporción de aproximadamente 1:5 a 1:30 v/v. Para una recuperación eficiente de los anticuerpos de la yema, el pH es de aproximadamente 5-7. Deseablemente, la temperatura en esta etapa está dentro de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 60 °C. La suspensión de la yema de huevo se agita suavemente para formar una mezcla homogénea y luego se deja reposar durante un período de tiempo suficiente para formar las fases acuosa y no acuosa. Los materiales insolubles en agua, incluidas las biomoléculas no acuosas tales como lipoproteínas, fosfolípidos, esteroides y similares, se eliminan luego de la suspensión acuosa de yema mediante centrifugación. El sobrenadante resultante que contiene el anticuerpo puede separarse luego del precipitante viscoso mediante decantación, succión u otros métodos similares conocidos en la técnica.

Opcionalmente, el sobrenadante de yema se trata adicionalmente con una alta concentración de una sal no desnaturizante para inducir la precipitación de los anticuerpos. Los ejemplos de las sales útiles para la precipitación de los anticuerpos de la yema incluyen, pero no se limitan a, NaCl, Na₂SO₄, (NH₄)₂SO₄, KCl, CaCl₂ y MgSO₄. Las sales específicas incluyen Na₂SO₄ y (NH₄)₂SO₄. La concentración de sal para precipitar anticuerpos depende del tipo de sal. En un ejemplo, la sal está presente en una cantidad superior al 15 % e inferior al 35 % en peso, específicamente entre el 20 % y el 30 % en peso de la sal, en base al volumen final del sobrenadante de yema.

Alternativamente, los anticuerpos pueden purificarse o aislarse usando cualquier técnica convencional tal como purificación por inmovinoafinidad.

En un ejemplo, los anticuerpos de yema de huevo de uso en la invención se preparan mediante el siguiente método. Se inoculan gallinas ponedoras con el péptido IL-10 R2 de uso en la invención. Opcionalmente, se administra un adyuvante junto con el péptido IL-10 R2 para potenciar la inmunización. Un adyuvante útil para este propósito es un adyuvante de emulsión de agua en aceite tal como el adyuvante completo de Freund. El péptido IL-10 R2 hace que las gallinas produzcan anticuerpos anti-IL-10 R2 que se transfieren pasivamente a la yema de huevo de los huevos puestos por las gallinas.

Las yemas de huevo o los huevos enteros que contienen el anticuerpo anti-IL-10 pueden recogerse y homogeneizarse para formar una emulsión. La emulsión resultante se puede secar para formar un polvo que contiene el anticuerpo anti-IL-10 R2. Este polvo puede luego formularse de una manera apropiada para la vía de administración y luego administrarse a los animales deseados usando métodos conocidos en la técnica. La preparación se administra preferiblemente por vía oral, tal como en una forma de dosificación oral o como complemento de la dieta del animal.

Los anticuerpos que se unen específicamente a los péptidos IL-10 R2 de uso en la invención pueden aislarse y purificarse a partir de suero o huevo animal usando un método apropiado conocido en la técnica. Tales métodos incluyen la cromatografía de afinidad, así como otros métodos apropiados para el aislamiento y la purificación de anticuerpos conocidos en la técnica y descritos en la Patente de EE. UU. No. 6,608,172 y el documento De Meulenaer et al., "Isolation and Purification of Chicken Egg Yolk Immunoglobulins: A Review," Food and Agricultural Immunology, Vol. 13(4), 2001. En un ejemplo particularmente apropiado, el animal de producción es un animal aviar tal como pollo, pavo, pato o codorniz, y el anticuerpo se aísla de la yema de huevo del huevo del animal aviar.

En un ejemplo, la yema de huevo o el suero que incluye los anticuerpos se secan adicionalmente para formar un polvo que incluye los anticuerpos de uso en la invención. El huevo entero, la yema de huevo o partes del huevo se pueden secar por pulverización. El suero se puede separar de la sangre entera según métodos conocidos para los expertos en la técnica. El secado por pulverización de huevo y suero se puede realizar usando métodos de secado por pulverización conocidos y equipos de secado por pulverización disponibles comercialmente. Los polvos secos de huevo y suero también se pueden preparar por liofilización. El huevo deshidratado, la yema de huevo o el suero en polvo pueden introducirse luego en piensos para animales como un aditivo para piensos para transferir anticuerpos a un animal.

En un aspecto adicional, la invención proporciona aditivos para piensos para animales y aditivos alimentarios que incluyen los anticuerpos aislados que se unen específicamente a los péptidos IL-10 R2 de uso en la invención. Los aditivos para alimentos o piensos incluyen opcionalmente un portador.

Como se usa en este documento, un aditivo para alimentos o piensos es una sustancia que se agrega al alimento o pienso para potenciar las propiedades del alimento o pienso.

En un aspecto adicional, la invención proporciona alimentos y piensos que contienen los anticuerpos aislados que se unen específicamente a los péptidos IL-10 R2 de uso en la invención.

Más generalmente, se divulgan en este documento aditivos para piensos para animales y aditivos alimentarios que incluyen los péptidos IL-10 R2 divulgados en este documento. También se divulgan alimentos y piensos que contienen los péptidos IL-10 R2 divulgados en este documento.

Como se usa en este documento, el término "pienso" se refiere ampliamente a un material, líquido o sólido, que se usa para nutrir a un animal y para mantener el crecimiento normal o acelerado de un animal, incluidos los recién nacidos o los animales jóvenes y en desarrollo. El término incluye un compuesto, preparación, mezcla o composición apropiados para la ingesta por parte de un animal. En concreto, el pienso es apropiado para aves de corral tales como codornices, patos, pavos y pollos y animales tales como bovinos, equinos, ovinos y caprinos; para peces; o para animales de compañía.

Una composición de pienso comprende una composición de pienso básico y uno o más aditivos para pienso. El término "composición de pienso básico" se refiere a una composición alimentaria combinable con aditivos tales como los péptidos y anticuerpos descritos en este documento. Las composiciones de pienso básico para animales pueden incluir componentes tales como proteínas, granos, composiciones de sabor, vitaminas, minerales, conservantes y similares. Las composiciones de pienso básico pueden ser apropiadas para la ingestión por parte de un animal objetivo. El término "aditivo para piensos", como se usa en este documento, se refiere a los componentes incluidos en pequeñas cantidades con el fin de fortalecer el pienso básico con nutrientes, estimulantes, medicamentos o para promover la ingesta de alimento o alterar el metabolismo. Los aditivos para piensos incluyen mezclas previas de composiciones biológicas o, en la presente divulgación, mezclas previas de péptido IL-10 o anticuerpo aislado que se une específicamente al péptido IL-10.

En un ejemplo, la presente divulgación incluye un aditivo para piensos para animales que incluye péptidos IL-10 R2 que incluyen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1-31.

En una realización de la presente invención, la presente divulgación incluye un aditivo para piensos para animales que incluye anticuerpos aislados que se unen específicamente a un péptido IL-10 R2 que consiste en una secuencia de 8-15 aminoácidos que incluye la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NOs: 4-31.

Los péptidos IL-10 R2 o los anticuerpos aislados que se unen específicamente a los péptidos IL-10 R2 pueden agregarse a un pienso para animales como un aditivo para piensos o mezclarse en un pienso para animales mediante un método conocido en la técnica para mezclar aditivos para piensos y pienso para animales. En un ejemplo, el péptido IL-10 R2 o el anticuerpo aislado que se une específicamente al péptido IL-10 R2 se agrega directamente al pienso para animales o se mezcla con el pienso para animales justo antes de alimentar al animal. En otro ejemplo, dado que los piensos se pueden peletizar o extruir, el péptido IL-10 R2 o el anticuerpo aislado que se une específicamente al péptido IL-10 R2 se puede recubrir en la superficie del pienso (pellas) después de que el pienso haya sido peletizado o extruido (aplicación posterior a la peletización) para mantener las propiedades funcionales del péptido IL-10 R2 o del anticuerpo aislado que se une específicamente al péptido IL-10 R2. La adición del péptido IL-10 R2 o el anticuerpo aislado que se une específicamente al péptido IL-10 R2 después de la peletización se puede ayudar mezclando el péptido IL-10 R2 o el anticuerpo aislado que se une específicamente al péptido IL-10 R2 en agua, aceite u otro portador apropiado y pulverizándolo sobre las pellas a medida que salen de la matriz de peletización.

La cantidad de péptido IL-10 R2 o anticuerpo aislado que se une específicamente al péptido IL-10 R2 agregado y/o mezclado con el pienso para animales depende del régimen de alimentación y el tipo de pienso para el animal, y puede ser determinada por los expertos en la técnica. Por lo general, las cantidades de péptidos IL-10R2 y/o anticuerpos aislados contra el péptido IL-10R2 que se usarán en un pienso para animales se resumen a continuación, en la tabla 2. Los anticuerpos preparados que usan otras fuentes pueden calcularse como equivalentes usando la tabla 2.

Tabla 2. Dosis de anticuerpo Anti-IL-10 R2 en pienso para animales (mg/Kg de dieta) preparado con anticuerpo de yema de huevo.

Fuente	Dosis baja	Dosis alta
Antipéptido purificado por afinidad	0.0015	0.5
Antipéptido IgY	0.015	50
Yema inmune deshidratada	0.8	4000
Huevo entero inmune deshidratado	1.5	7500

Las dosis que se muestran se basan en la cantidad de anticuerpo específico de epítipo en la IgY total (1 a 10 %), la cantidad de IgY en el huevo (5-10 mg/kg de pienso), las pérdidas de anticuerpos debidas al almacenamiento por desecación y a la degradación gastrointestinal.

- 5 Un pienso para animales puede incluir además ingredientes opcionales que incluyen vitaminas, minerales, antibióticos, lípidos, carbohidratos, proteínas, antioxidantes y aminoácidos.

10 Las vitaminas de ejemplo incluyen vitamina A, vitamina B, vitamina D, vitamina E y vitamina K. Los minerales de ejemplo incluyen calcio, fósforo, sodio, potasio, magnesio, cloro, cobalto, yodo, hierro, manganeso, cobre, molibdeno, zinc, y selenio. Los complementos minerales comunes usados en pienso para aves de corral, por ejemplo, incluyen piedra caliza, harina de huesos, concha de ostra, cloruro de sodio, fosfato dicálcico, sulfato de manganeso, yoduro de potasio y superfosfato.

15 En algunos ejemplos, se pueden incluir uno o más antibióticos en el pienso para animales junto con el aditivo para piensos. Los antibióticos de ejemplo incluyen penicilina, estreptomicina, tetraciclina, bacitracina de zinc y aureomicina.

20 Los lípidos de ejemplo incluyen semillas oleaginosas, aceites y lípidos derivados de plantas o animales. Las fuentes de semillas oleaginosas, aceites y lípidos incluyen maíz, soja, algodón, lupino, maní, girasol, canola, aceite de semilla de sésamo, aceite de oliva, aceite de copra y coco, almendras de palma y aceite de palma, caseína, grasa de mantequilla, manteca de cerdo, aceites de pescado, linaza y aceite, aceite de atún, sebo y grasa amarilla, y mezclas de los mismos.

25 Los carbohidratos de ejemplo incluyen almidón, celulosa, pentosanos, otros carbohidratos complejos, maíz, mijo, cebada, centeno, avena, trigo, harina de trigo y diversos subproductos de granos.

30 Las fuentes de ejemplo de proteína incluyen proteína obtenida de harina de carne o harina de pescado, huevo líquido o en polvo, solubles de pescado, suero de leche, proteína de leche, arroz, mijo, maíz, avena, cebada, trigo, centeno, salvado de trigo y/o harinillas, soja, semillas de sésamo, guisantes y habas, semillas de girasol, germen de trigo, semillas de alfalfa, semillas de lino, levadura, lombrices y pescado.

35 Los aminoácidos de ejemplo incluyen arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, tirosina etil HCl, alanina, ácido aspártico, glutamato de sodio, glicina, prolina, serina, cisteína etil HCl y análogos y sales de los mismos.

Los antioxidantes de ejemplo incluyen betacaroteno, vitamina E, vitamina C y tocoferol, o antioxidantes sintéticos.

40 En ejemplos específicos, el pienso para animales que incluye el aditivo para piensos ya sea del péptido IL-10 R2 o el anticuerpo aislado es un pienso para especies de aves tales como codornices, patos, pavos y pollos, así como piensos para mamíferos, incluidos los cerdos, vacas, perros, gatos, conejos y similares. Como se usa en este documento, el término "alimento" se refiere ampliamente a un material, líquido o sólido, que se usa para nutrir a un ser humano. El término incluye un compuesto, preparación, mezcla o composición apropiados para el consumo humano. Una composición alimentaria comprende una composición alimentaria básica. El término "composición alimentaria básica" se refiere a una composición alimentaria combinable con aditivos tales como el péptido y los anticuerpos descritos en este documento.

Las composiciones alimentarias básicas de ejemplo incluyen leche, jugo, fórmula y alimentos sólidos tales como bocadillos consumibles por humanos, incluidos niños humanos.

50 También se divulgan en este documento composiciones farmacéuticas que comprenden los péptidos IL-10 R2 y/o los anticuerpos anti IL-10 R2 se divulgan en este documento y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

55 En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende una yema de huevo deshidratada, en la que la yema de huevo deshidratada comprende un anticuerpo que se une específicamente a un péptido IL-10 R2, en la que el péptido IL-10 R2 consiste en una secuencia de 8-15 aminoácidos que incluye una cualquiera de SEQ ID NOs: 4-31. En determinadas realizaciones de este aspecto, el anticuerpo que se une específicamente a un péptido IL-10 R2 en la yema de huevo comprende un total del 1 al 10 % en peso de la IgY total en la yema de huevo.

60 La composición que comprende yema de huevo puede estar en forma de una composición de aditivo alimentario o pienso para animales, una composición de alimento o pienso, o una composición farmacéutica como se ha descrito anteriormente.

65 En otro aspecto, la invención proporciona composiciones que comprenden los anticuerpos aislados y la yema de huevo deshidratada de la invención para su uso en un método de reducción de un patógeno transmitido por alimentos o ambiental en los intestinos de un sujeto que lo necesite, dicho método comprende administrar al sujeto dicha

composición, en el que el anticuerpo se administra en una cantidad eficaz para reducir el patógeno transmitido por alimentos o ambiental en los intestinos del sujeto.

También se divulga en este documento una composición que comprende los péptidos IL-10 R2 divulgados en este documento para su uso en un método de reducción de un patógeno transmitido por alimentos o ambiental en los intestinos de un sujeto que lo necesite, dicho método comprende administrar al sujeto dicha composición en el que el péptido se administra en una cantidad eficaz para reducir el patógeno transmitido por alimentos o ambiental en los intestinos del sujeto.

Como se usa en este documento, un patógeno transmitido por los alimentos es un patógeno transmitido a un huésped humano o animal a través de los alimentos. Por ejemplo, la mayoría de los casos de campilobacteriosis, la infección causada por la bacteria *Campylobacter*, se asocian al consumo humano de carne y aves de corral crudas o poco cocinadas, o a la contaminación cruzada de otros alimentos por estos productos. Los patógenos ambientales incluyen microorganismos que normalmente pasan una parte sustancial de su ciclo de vida fuera de sus huéspedes humanos o animales, pero que cuando se introducen en humanos o animales causan enfermedades o síntomas tales como reducción de la ganancia de peso con una frecuencia mensurable. La *Salmonella* es un patógeno ambiental de los pollos que a menudo no produce síntomas en las aves de corral infectadas, pero es un problema grave cuando se transmite a los seres humanos a través del consumo de productos de aves de corral.

Los patógenos ambientales o transmitidos por los alimentos de ejemplo incluyen un protozoo, una bacteria, un gusano parásito, un virus o una combinación que comprende al menos uno de los anteriores.

Los protozoos gastrointestinales incluyen parásitos del reino *Protozoa*. En una realización apropiada, los protozoos tratados por los métodos actualmente divulgados pueden ser de apicomplejos. Los apicomplejos apropiados pueden ser, por ejemplo, *Coccidiasina*. En una realización particularmente apropiada, el protozoo es *Eimeriorina* tal como, por ejemplo, *Eimeriidae* y *Cryptosporidiidae*. En una realización particularmente apropiada, los protozoos se seleccionan del grupo que consiste en *Cryptosporidium*, *Eimeria acervulina*, *Eimeria tenella*, *Eimeria maxima* y *Eimeria brunetti*.

La coccidiosis, por ejemplo, provoca la supresión del crecimiento y otros efectos de enfermedad en las aves de corral. Los coccidios generalmente no son transferibles a los humanos que consumen productos de aves de corral. Debido a que las aves jóvenes son más susceptibles a la coccidiosis que las aves más maduras, la coccidiosis generalmente se trata proporcionando agentes anticoccidiales en los piensos de inicio. En la producción comercial de pollos, por ejemplo, los piensos de inicio generalmente se usan solo en las primeras 3 semanas de vida de un pollito debido a la susceptibilidad temprana a la coccidiosis, el coste de los piensos que contienen aditivos y las preocupaciones por la transferencia de agentes a la carne producida. En pavos, los piensos de inicio se pueden usar durante 6-8 semanas después de la eclosión. Los anticuerpos anti-IL-10 R2 reducen la supresión del crecimiento típica de los animales infectados con protozoos gastrointestinales.

La infección con la bacteria *Salmonella* a menudo no produce síntomas en las aves de corral infectadas, pero es un problema grave cuando se transmite a los seres humanos a través del consumo de productos de aves de corral. Un aditivo que pueda reducir la *Salmonella* en los intestinos de las aves de corral, particularmente cuando se usa en las últimas 1 a 4 semanas antes de la cosecha, reduciría en gran medida el paso de la *Salmonella* de las aves a los humanos a través del consumo de carne de aves de corral. Los péptidos IL-10 R2 y los anticuerpos antipéptido IL-10 R2 divulgados en este documento representan una nueva estrategia para prevenir la transmisión de *Salmonella* a los seres humanos mediante la reducción de *Salmonella* en los intestinos de las aves de corral.

En algunas realizaciones, en las que el sujeto es un pollo, el péptido comprende SEQ ID NO: 14 o 28, y el patógeno transmitido por alimentos o ambiental es una especie de *Eimeria*, *Cryptosporidium*, una especie de *Salmonella* o una combinación de las mismas.

Los mamíferos jóvenes antes del destete, tales como los terneros de leche, son susceptibles a la neumonía de los terneros de leche, denominada Complejo de Enfermedades Respiratorias Bovinas. El complejo de enfermedades respiratorias bovinas (BRD) es una causa importante de morbilidad, mortalidad y preocupación por el bienestar animal y le cuesta a la industria entre 800 y 900 millones de dólares al año. El tratamiento con antibióticos es costoso, las tasas de recurrencia son altas, el desarrollo de secuelas refractarias es común y la resistencia a los antibióticos es una preocupación. De este modo, existe la necesidad de mejorar el tratamiento de los mamíferos antes del destete que son susceptibles a las infecciones respiratorias, incluidos los mamíferos del género *Bos* (terneros/vacas), *Ovis* (corderos/oveja), *Capra* (cabritos/cabras lecheras), *Sus* (lechones/cerdos) y *Bubalus* (ternero/búfalo de agua), en particular mamíferos alimentados con leche.

También se describe en este documento un método de reducción de un síntoma de enfermedad respiratoria en un mamífero alimentado con leche antes del destete que comprende administrar por vía oral al mamífero alimentado con leche antes del destete una cantidad eficaz de un péptido IL-10 R2 como se divulga o un anticuerpo aislado que se une específicamente a un péptido IL-10 R2 como se divulga en este documento. La administración puede iniciarse entre el nacimiento y el destete, tal como entre 1 y 3 días después del nacimiento, y en la que la administración se realiza al menos una vez al día durante un período de 7 días a 7 semanas, específicamente de 7 días a tres, cuatro,

cinco o seis semanas, más específicamente de 7 días a 2 semanas. Por ejemplo, el mamífero tratado es un bovino que exhibe evidencia reducida de enfermedad respiratoria a la edad de 56 días en comparación con un bovino de control no tratado antes del destete. En determinados ejemplos, la administración del péptido IL-10 R2 o del anticuerpo anti-IL-10 R2 se detiene después del período de tratamiento, por ejemplo, un período de tratamiento de 7 días a 7 semanas. En otro ejemplo, la administración del péptido IL-10 R2 o del anticuerpo anti IL-10 R2 no se reinicia durante al menos 1 a 14 días, específicamente de 7 a 14 días. En algunos casos, el mamífero alimentado con leche antes del destete es un bovino (un ternero) y la enfermedad respiratoria es una enfermedad respiratoria bovina. Alternativamente, el mamífero alimentado con leche antes del destete es una oveja, una cabra lechera o un búfalo de agua.

Como se usa en este documento, el término destete significa la práctica de separar a un mamífero tal como un ternero de su fuente de leche. Los terneros generalmente se separan de sus madres poco después del nacimiento y se alimentan con leche entera o un sustituto de leche hasta el destete de su fuente de leche, generalmente a una edad entre los 28 y los 56 días. Los terneros que se crían separados de sus madres pueden denominarse terneros alojados y generalmente se alojan en corrales individuales o en pequeños grupos. Los terneros lactantes, sin embargo, también pueden complementarse con leche o sustituto de leche. De este modo, un mamífero antes del destete es un bebé mamífero que recibe la mayor parte de su nutrición de la leche. Como se usa en este documento, alimentado con leche significa que un mamífero es alimentado ya sea con leche entera, leche de desecho o sustituto de leche como su principal fuente de nutrición. El sustituto de leche, en el caso de los terneros, generalmente incluye proteína tal como proteína de suero o caseína, pero también puede contener proteína de soja, por ejemplo. Además, los sustitutos de la leche incluyen grasas tales como grasa animal o aceite vegetal, aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales.

En un ejemplo, un ternero antes del destete es un ternero que tiene 56 días o menos. En el caso de las cabras y las ovejas, el destete generalmente se basa en el peso; sin embargo, el destete generalmente ocurre a la edad de 6-8 semanas o más. El destete del búfalo de agua es más largo que el de las vacas, generalmente a los 90 días o más.

Los síntomas de enfermedad respiratoria incluyen temperatura rectal elevada, tos, secreción nasal, secreción ocular y/u orejas caídas. La diarrea puede ser causada por patógenos fecales, incluido *Cryptosporidium parvum*, y con frecuencia se asocia con una reducción del apetito, una actitud anormal, deshidratación, reducción de la ganancia de peso y/o disminución del pH fecal. Las enfermedades respiratorias y la diarrea son las dos enfermedades más importantes de los terneros antes del destete.

El pH fecal, específicamente un pH fecal neutro, puede ser una indicación de una mejor digestión y salud gastrointestinal. El pH fecal se puede usar como indicador de la salud del tracto gastrointestinal de un ternero. Un pH de 5.5 a 7.4 es indicativo de un ternero saludable, mientras que un pH de menos de 5.5 o mayor de 7.4 puede ser indicativo de una disfunción del tracto digestivo.

En una realización del uso terapéutico de la invención (reducción de un patógeno transmitido por alimentos o ambiental en los intestinos de un sujeto que lo necesita), el sujeto es un mamífero herbívoro, tal como un bovino, un equino, un ovino, un caprino, una cabra, una llama, una alpaca, un ciervo, un alce o un cerdo.

En otra realización del uso terapéutico de la invención, el sujeto es un animal de compañía, tal como un perro, gato, conejo, cobaya, minicerdo, hámster o pájaro mascota.

En otra realización más del uso terapéutico de la invención, el sujeto es un ser humano.

En otra realización del uso terapéutico de la invención, el sujeto es un pez, específicamente un pez criado en acuicultura. Como se usa en este documento, acuicultura significa el cultivo activo de organismos acuáticos bajo condiciones controladas. Los sistemas de acuicultura usan el agua como medio de cultivo. Un sistema de acuicultura debe proporcionar agua limpia y oxigenada para apoyar a los organismos cultivados, así como un medio para eliminar el agua desoxigenada y los desechos. Como se usa en este documento, la acuicultura incluye tanto la acuicultura marina como la de agua dulce. Los sistemas acuícolas típicos incluyen tanques de retención y medios para filtrado, control de gas disuelto y control de temperatura. La acuicultura generalmente requiere una composición de pienso para acuicultura preparada para cumplir con los requisitos dietéticos de los animales cultivados.

Las composiciones de pienso básico para peces de acuicultura, por ejemplo, contienen una fuente de proteína tal como harina de pescado. Debido a los problemas para asegurar los peces para producir harina de pescado y el agotamiento de la población de peces para alimentar a los peces, se han hecho intentos para complementar los piensos para peces con otras proteínas. La proteína de soja se usa comúnmente como fuente de proteína en los piensos básicos para peces; sin embargo, la proteína de soja induce inflamación intestinal y aumenta las citocinas proinflamatorias. Alimentar a los peces con los péptidos y anticuerpos descritos en este documento puede reducir la inflamación intestinal en los peces. Se ha demostrado que bacterias tales como *Flavobacterium columnare* (bagre), *Yersinia ruckeri* (trucha arco iris), *Flavobacterium psychrophilum* (trucha y salmón), *Aeromonas hydrophila* (tilapia) aumentan la producción de IL-10 durante la infección.

Los peces de alto valor para aplicaciones de acuicultura (carpa, tilapia, lubina rayada híbrida, salmón, trucha, bagre, perca amarilla, lucioperca; especies marinas tales como bacalao, cobia, lubina, atún y lenguado; y mariscos como camarones, vieiras y ostras, por ejemplo) pueden tener un crecimiento larvario deficiente y altas tasas de mortalidad, lo que está retrasando la expansión de la industria acuícola. En particular, puede haber altas tasas de mortalidad de hasta el 95 % en el estadio larvario. Se ha demostrado que la inflamación del tracto gastrointestinal ralentiza el crecimiento de las especies de peces. Se necesitan nuevos métodos para mejorar el crecimiento de los peces. Los péptidos y anticuerpos descritos en este documento se pueden agregar a un pienso para peces o a un pienso para peces antes o después de la formación de pellas y se pueden agregar ya sea a la dieta o como reemplazo de algunos de los lípidos en el alimento para peces.

Las composiciones y métodos descritos en este documento tienen el potencial de eliminar la necesidad de vacunas para protozoos. Al alterar una etapa clave en la respuesta inmune a los protozoos, por ejemplo, los anticuerpos anti-IL-10 R2 mejoran la respuesta inmune a la infección sin efectos adversos. Los métodos actuales para controlar la infección por protozoos son fármacos y vacunas atenuadas. Las vacunas atenuadas tienen impactos negativos en el crecimiento animal, mientras que los antibióticos se están eliminando gradualmente de los piensos para animales. El uso de un anticuerpo contra la IL-10 y su receptor puede ser más eficaz que cualquiera de ellos solo.

La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplos

Ejemplo 1: Diseño de péptidos IL-10 R1 y R2

Las secuencias para IL-10, IL-10 R1 e IL-10 R2 de pollo se obtuvieron de la proteína pubmed.gov: CAF18432, CAJ15791.1, NP_990188.1. Se evaluó la antigenicidad de las secuencias de péptidos de 8 aminoácidos usando el software Bepipred 2.0 y se usó la cristalografía para determinar la accesibilidad de los anticuerpos. Los péptidos se conjugaron con gammaglobulina bovina (BGG, Sigma, St. Louis, MO) usando un procedimiento de glutaraldehído. La vacuna de control y el refuerzo consistieron en BGG tratada con glutaraldehído y adyuvantes completos e incompletos de Freund (Difco Laboratories, Detroit, MI), los mismos adyuvantes usados para fabricar un anticuerpo aIL-10. Las gallinas se inyectaron como se describió anteriormente y los huevos que contenían el anticuerpo se recolectaron a partir de los 21 días posteriores a la primera inyección, las yemas se separaron y se secaron mediante liofilización. La presencia del anticuerpo se determinó mediante ELISA, cuando el péptido de recubrimiento se unió a la ovoalbúmina.

Los péptidos IL-10 R1 probados se dan en la tabla 3:

Tabla 3: Péptidos IL-10 R1

Nombre	Secuencia peptídica para pollo	SEQ ID NO:
IL-10 Receptor 1:1	PGRDAPSD	32
IL-10 Receptor 1:2	GTNSPWTA	33
IL-10 Receptor 1:3	TNAFSPQE	34
IL-10 Receptor 1:4	RTVKYDDI	35
IL-10 Receptor 1:5*	ISSSGSTD	36
IL-10 Receptor 1:6*	HHRHSPAT	37

Los péptidos IL-10 R2 se dan en la tabla 4:

Tabla 4: Péptidos IL-10 R2

Nombre	Secuencia peptídica para pollo	SEQ ID NO:
IL-10 Receptor 2:1	VPKPRNAR	14
IL-10 Receptor 2:2	PPGVRKGN	28
IL-10 Receptor 2:3	ADTVIGPP	38

Experimentación con pollitos: Se realizaron cinco experimentos con pollitos para determinar la eficacia de neutralización de los anticuerpos IgY orales contra IL-10 R1 e IL-10 R2. Pollitas de engorde de un día de Welp Hatchery, Bancroft, Iowa, se dividieron en cinco pollitos/corral y se alojaron en una criadora en batería con pisos elevados de alambre. Se asignaron diez corrales de pollitos a cada tratamiento en un arreglo factorial de infección anticuerpos X coccidia en un diseño completamente al azar. Las dietas consistieron en una dieta estándar de inicio para pollos de engorde complementada con ya sea anticuerpo de yema de huevo deshidratada de control (de gallinas inyectadas con portador de BGG en adyuvante) o un anticuerpo de yema de huevo deshidratada de péptido aIL-10/aIL-

10 R1/aIL-10 R2 (3.41 g /kg dieta). Dado que el anticuerpo peptídico reemplazó al anticuerpo de control que contenía exactamente los mismos perfiles de nutrientes (perfiles de nutrientes de yema de huevo en polvo), el contenido de nutrientes de todas las dietas fue idéntico y provino del mismo lote de pienso. El nivel dietético de anticuerpos anti-IL-10 fue un nivel que previno la depresión del crecimiento inducida por *Eimeria* en pollitos. Los pollitos a los que se les asignó cada tratamiento dietético se les administró ya sea por vía oral una solución salina o una vacuna contra la coccidiosis de Advent (10 X dosis de vacuna que consiste en una mezcla patentada de ooquistes vivos atenuados de *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima*, y *Eimeria tenella*, Huvepharma, Sofía, Bulgaria) a los 3 días. Los pollitos y el pienso se pesaron los días 7, 14 y 21. La conversión de piensos se calculó dividiendo el consumo del pienso por el peso corporal durante el período de 21 días. Se recogieron muestras fecales de cada corral el día 7 después de la infección. Los ooquistes por gramo de heces se cuantificaron mediante la técnica de McMaster.

La tabla 5 proporciona los anticuerpos orales usados en cada experimento.

Tabla 5: Anticuerpos orales evaluados en cada experimento

Número de experimento	Anticuerpos evaluados
Experimento 1	Control, aIL-10 R1:2, aIL-10 R1:4, aIL-10 R1:5
Experimento 2	Control, aIL-10 R1:1, aIL-10 R1:3, aIL-10 R1:6
Experimento 3	Control, aIL-10 R1:5, aIL-10 R1:6
Experimento 4	Control, aIL-10 R2:1, aIL-10 R2:2, aIL-10 R2:3
Experimento 5	Control, aIL-10, aIL-10 R2:1, aIL-10 R2:2

Análisis estadístico: los experimentos se establecieron en un diseño factorial completamente aleatorizado y se analizaron como un ANOVA de dos vías usando ANOVAs PROC MIXED of SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC). La prueba LSD se usó para comparaciones de múltiples tratamientos usando la afirmación LSMEANS de SAS 9.4 con agrupación de letras obtenida usando la macro SAS pdmix800. Para las diferentes pruebas estadísticas, la significación se declaró con un valor de $P < 0.05$. Se realizaron análisis post hoc para las diferencias de tratamiento si las interacciones eran significativas.

Tinción inmunohistoquímica: Para demostrar la presencia de IL-10 R1 e IL-10 R2, se usaron secciones de parafina recolectadas previamente con elevación conocida de IL-10 en la mucosa en comparación con aves no infectadas. Los portaobjetos eran del duodeno de aves a la edad de 26 días ya sea infectadas con coccidios o una sonda de solución salina de control el día 21 como se describe anteriormente. Los portaobjetos se incubaron durante la noche a 60 °C antes de desparafinarlos con dos cambios de xileno durante 10 minutos y se rehidrataron con alcohol isopropílico en dos cambios de alcohol al 100 %, dos cambios de alcohol al 95 %, un cambio de alcohol al 75 % y un cambio de agua destilada a 1 min por cambio. Los portaobjetos se sometieron a recuperación de epítomos inducida por calor (HIER) en solución de tris urea. Después de enjuagar con solución salina regulada con tris, se usó una pluma ImmEdge™ (Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA) para aislar secciones de tejido y se sumergieron con solución reguladora de bloqueo durante 1 hora en una cámara humidificada.

Para articular IL-10 R1, los tejidos se recubrieron con anticuerpo policlonal de conejo anti-IL-10 R1 (GeneTex, Irvine, CA) a una dilución de 1:300 en solución reguladora de bloqueo durante la noche a 4 °C en un recinto oscuro humidificado. A continuación, los portaobjetos se tiñeron con Donkey anti-rabbit Dylight® 594 diluido 1:100 (Bethyl, Montgomery, TX) durante una hora en una cámara humidificada. Los núcleos se resaltaron con Fluoro-Gel con solución reguladora tris y solución de 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI).

Para articular IL-10 R2, una sección intestinal contigua se recubrió con anticuerpo policlonal de conejo anti-IL-10 R2 (GeneTex, Irvine, CA) a una dilución de 1:100 en solución reguladora de bloqueo durante la noche a 4 °C en un recinto oscuro humidificado. A continuación, los portaobjetos se tiñeron con Donkey anti-rabbit Dylight® 594 diluido 1:100 (Bethyl, Montgomery, TX) durante una hora en una cámara humidificada. Los núcleos se resaltaron con Fluoro-Gel con solución reguladora tris y solución DAPI. Debido a la autofluorescencia de la pared del ooquiste de *Eimeria* a 495 nm, solo se usó el canal rojo para la inmunofluorescencia y el canal azul para los núcleos celulares. Se tomaron imágenes de los portaobjetos usando un microscopio Nikon Eclipse E600 con accesorio de fluorescencia Y-FL.

Ejemplo 1: Rendimiento de pollos de engorde con administración oral de anticuerpos IL-10 R1

Cada uno de los seis anticuerpos IL-10 R1 analizados no tuvo un efecto significativo sobre el peso de los pollitos en comparación con los pollitos alimentados con el anticuerpo de control. A lo largo de los 21 días de tratamiento con los anticuerpos 1-6 de IL-10 R1, los pollitos de los estudios 1 y 2 no tuvieron diferencias significativas de peso corporal después de la infección por coccidios en comparación con el control (Tablas 6 y 7). Se usó una dosis más baja de *Eimeria* en el estudio 3 y, aunque no se observó ningún efecto de coccidiosis el día 21, hubo una pérdida de peso significativa los días 10 y 14 ($p < 0.05$), lo que indica infección por coccidios (Tabla 8). Sin embargo, ninguno de los anticuerpos IL-10 R1 reexaminados en el estudio tuvo ningún efecto anticoccidios.

Tabla 6: Estudio 1 de los anticuerpos anti-IL-10 R1 en pollos

Estudio 1	Peso de pollito individual (g)			Conversión de piensos			Recuento de ooquistes
	No infectados	Infectados por coccidios	Efecto principal de anticuerpos	No infectados	Infectados por coccidios	Efecto principal de anticuerpos	Ooquistes/g ramo de heces*
Control	790	663	726A	1.452	1.572	1.512B	316236B
aIL-10 R1:2	762	636	699A	1.531	1.723	1.627A	307109B
aIL-10 R1:4	780	657	718A	1.522	1.73	1.626AB	388711A
aIL-10 R1:5	677	593	635B	1.644	1.746	1.695A	535654B
SEM	21			0.055			
Valores P							
Anticuerpo	<0.0001			0.02			0.003
Coccidiosis	<0.0001			0.0003			<0.0001
Anticuerpo x Coccidiosis	0.7			0.74			0.003

A-B Las medias con diferentes superíndices dentro de una columna fueron significativamente diferentes (P < 0.05). El peso promedio (n = 10) y el consumo de pienso (n = 10) se midieron en gramos. SEM = Error estándar de la media. La conversión de piensos se calcula dividiendo el consumo del pienso por el peso corporal promedio del corral.

* Todos los corrales no infectados tenían recuentos de ooquistes de 0 ooquistes por gramo de heces. Solo los grupos infectados por coccidios se muestran en la tabla.

Tabla 7: Estudio 2 Anticuerpos 1, 3 y 6 contra el receptor 1 de IL-10

Estudio 2	Peso de pollito individual (g)		Conversión de piensos		Recuento de ooquistes
	No infectados	Infectados por coccidios	No infectados	Infectados por coccidios	Ooquistes/gramo de heces*
Control	735	639	1.678	1.877	657688
aIL-10 R1:1	710	655	1.682	1.74	327232
aIL-10 R1:3	711	676	1.674	1.751	360146
aIL-10 R1:6	731	656	1.685	1.593	522890
SEM	21		0.071		93221
Valores P					
Anticuerpo	0.94		0.17		0.26
Coccidiosis	<0.0001		0.15		<0.0001
Anticuerpo x Coccidiosis	0.53		0.13		0.26
Peso promedio (n = 10) y el consumo del pienso (n = 10) se midieron en gramos. SEM = Error estándar de la media. La conversión de piensos se calcula dividiendo el consumo del pienso por el peso corporal promedio del corral.					
*Todos los corrales no infectados tenían recuentos de ooquistes de 0 ooquistes por gramo de heces. Solo los grupos infectados por coccidios se muestran en la tabla.					

Tabla 8: Estudio 3 Anticuerpos 5 y 6 contra el receptor 1 de IL-10

Estudio 3	Día 10	Día 14	Día 21			
	Peso del pollito	Peso del pollito	Peso del pollito	Conversión de piensos	FC Efecto principal de anticuerpos	Ooquistes/g de heces**
Control No infectados	199	386	698	1.411	1.421B	0
Control infectado	178	341	634	1.43		309184
R1:5 No infectados	206	372	645	1.473	1.471A	0
R1:5 infectado	181	341	657	1.469		317882

(continuación)

Estudio 3	Día 10	Día 14	Día 21			
	Peso del pollito	Peso del pollito	Peso del pollito	Conversión de piensos	FC Efecto principal de anticuerpos	Ooquistes/g de heces**
R1:6 No infectados	192	361	631	1.469	1.450 ^{AB}	0
R1:6 infectado	170	338	650	1.431		449404
Error estándar de la media	6	12	27	0.017		
Valores P						
Anticuerpo	0.15	0.49	0.51	0.02		0.0866
Coccidiosis	<0.0001	0.0009	0.57	0.58		<0.0001
Anticuerpo x Coccidiosis	0.94	0.65	0.13	0.23		0.0866

A-B Las medias con diferentes superíndices dentro de una columna fueron significativamente diferentes (P < 0.05). El peso promedio (n = 10) y el consumo del pienso (n = 10) se midieron en gramos. SEM = Error estándar de la media. La conversión de piensos se calcula dividiendo el consumo del pienso por el peso corporal promedio del corral

Ninguno de los seis anticuerpos IL-10 R1 probados recuperó las pérdidas asociadas con la infección por coccidiosis o la eliminación reducida de ooquistes. En el estudio 1, las dietas aIL-10 R1:2 y 5 tuvieron un impacto negativo en la conversión del pienso. aIL-10 R1:5 aumentó la eliminación de ooquistes y tuvo un impacto negativo en la tasa de crecimiento con una reducción del 12 % en el peso promedio de los pollitos en comparación con los pollitos alimentados con control ($p < 0.0001$, Tabla 6). El estudio 2 no mostró efectos de aIL-10 R1:1, 3 y 6. Debido a la tendencia de las aves infectadas con coccidiosis alimentadas con aIL-10 R1:6 a tener una conversión de piensos mejorada en un 15 % en comparación con las aves infectadas con coccidiosis alimentadas con anticuerpos de control; El tratamiento con aIL-10 R1:6 se repitió en el estudio 3. En el estudio 3, se repitió la administración de aIL-10 R1:5 durante la infección por coccidiosis y aunque no hubo una disminución similar en el peso de los pollitos debido al anticuerpo aIL-10 R1:5, seguía teniendo un impacto negativo en la conversión del pienso en comparación con el control (Tabla 8). La administración oral de anticuerpos IL-10 R1 no mejoró los síntomas negativos de coccidiosis y, en el caso de aIL-10 R1:2 y 5, tuvo un impacto negativo en la tasa de crecimiento y la conversión del pienso del ave.

Ejemplo 2: Rendimiento en pollos de engorde con administración oral de anticuerpos IL-10 R2

En los estudios 4 y 5, las aves infectadas con *Eimeria* ganaron significativamente menos peso y tuvieron una proporción de conversión de piensos mayor en comparación con las aves no infectadas (Tabla 9 y 10). En el estudio 4, los pollitos infectados alimentados con aIL-10 R2:1 o aIL-10 R2:2 superaron la infección por coccidiosis y tuvieron un peso corporal a los 21 días similar al de los pollitos no infectados (tendencia, $p = 0.07$). Ningún efecto principal debido al anticuerpo dietético estuvo presente en ninguno de los estudios. La administración oral de anticuerpos no tuvo efecto sobre la eliminación de ooquistes en los grupos de tratamiento infectados con *Eimeria*. En el estudio 5, los pollitos no infectados alimentados con aIL-10 ganaron significativamente menos peso en comparación con los pollitos no infectados de control alimentados con anticuerpos (Tabla 10). En el estudio 5, las aves infectadas alimentadas con control tuvieron una diferencia de 131 gramos en la ganancia de peso en comparación con las aves no infectadas alimentadas con control. En comparación con las aves alimentadas con control, aIL-10 tuvo una diferencia significativamente menor en la ganancia de peso entre los tratamientos con coccidiosis, lo que indica que aIL-10 tuvo un efecto positivo en la tasa de crecimiento durante la infección por coccidiosis. En general, ninguno de los anticuerpos contra IL-10 R1 afectó la ganancia de peso de las aves infectadas por *Eimeria*, mientras que aIL-10 R2:1 y aIL-10 R2:2 mostraron resultados prometedores similares a los de aIL-10.

Tabla 9: Estudio 4 Anticuerpos 1, 2 y 3 contra el receptor 2 de IL-10

Estudio 4	Peso de pollito individual (g)		Conversión de piensos (por corral)		Recuento de ooquistes
	No infectados	Infectados por coccidios	Ooquistes/gramo de heces	Infectados por coccidios	Ooquistes/g de heces*
FCA	684 ^a	585 ^c	1.468	1.533	622918
aIL-10 R2:1	679 ^a	663 ^a	1.511	1.516	614536
aIL-10 R2:2	659 ^a	646 ^{ab}	1.405	1.495	486347
aIL-10 R2:3	668 ^a	604 ^{bc}	1.459	1.53	866860
SEM	19		0.034		132053
Valores P					
Anticuerpo	0.17			0.27	0.73

(continuación)

Valores P			
Coccidiosis	0.0003	0.04	<0.0001
Anticuerpo x Coccidiosis	0.0692	0.62	0.73

a-c Medias con diferentes superíndices dentro de una columna tuvieron una tendencia ($P < 0.10$). El peso promedio ($n = 10$) y el consumo del pienso ($n = 10$) se midieron en gramos. SEM = Error estándar de la media. La conversión de piensos se calcula dividiendo el consumo del pienso por el peso corporal promedio del corral.

*Todos los corrales no infectados tenían recuentos de ooquistes de 0 ooquistes por gramo de heces. Solo los grupos infectados por coccidios se muestran en la tabla.

5

Tabla 10: Estudio 5 Anticuerpos 1 y 2 contra el receptor 2 de IL-10

Tabla 10. Estudio 5 Anticuerpos 1 y 2 contra el receptor 2 de IL-10					
Estudio 5	Peso de pollito individual (g)		Conversión de piensos		Recuento de ooquistes
	No infectados	Infectados por coccidios	Ooquistes/g de heces*	Infectados por coccidios	Ooquistes/g de heces*
Control	709 ^A	578 ^C	1.523	1.569	195031
aIL-10	662 ^B	595 ^C	1.484	1.498	374626
aIL-10 R2:1	681 ^{AB}	598 ^C	1.508	1.564	245589
aIL-10 R2:2	701 ^A	606 ^C	1.446	1.548	166483
SEM	11		0.028		35037
Valores P					
Anticuerpo	0.24		0.14		0.46
Coccidiosis	<0.0001		<0.0001		<0.0001
Anticuerpo x Coccidiosis	0.0478		0.71		0.46

A-C Las medias con diferentes superíndices dentro de una columna fueron diferentes significativamente (P < 0.05). El peso promedio (n = 10) y el consumo del pienso (n = 10) se midieron en gramos. SEM = Error estándar de la media. La conversión de piensos se calcula dividiendo el consumo del pienso por el peso corporal promedio del corral.

*Todos los corrales no infectados tenían recuentos de ooquistes de 0 ooquistes por gramo de heces. En la tabla sólo se muestran los grupos infectados por coccidios.

Ejemplo 3: Presencia de los receptores 1 y 2 de IL-10 en la mucosa intestinal

- 10 Para dilucidar aún más por qué aIL-10 R2 es más beneficioso que aIL-10 R1, se realizó inmunohistoquímica para evaluar la presencia de IL-10 R1 e IL-10 R2 durante la infección por *Eimeria*. Si bien tanto IL-10 R1 como R2 son de baja abundancia en pollitos no infectados, en el día 5 después de la infección en el duodeno, la presencia de IL-10 R1 es visualmente menor en comparación con el IL-10 R2 que se muestra en rojo (datos no mostrados). La mayor presencia de tinción con IL-10 R2 ilustra que es más prominente en la mucosa intestinal y las regiones infectadas por coccidios circundantes en comparación con IL-10 R1. La presencia de IL-10 R2 fue objetivamente mayor en las aves infectadas con *Eimeria* en comparación con las aves de control. Este resultado indica que IL-10R2 puede estar desempeñando un papel adicional durante la infección por *Eimeria* en pollos.

Discusión

- 20 Se ha demostrado previamente que la alimentación de pollos infectados con *Eimeria* aIL-10 previene la reducción del peso corporal en comparación con los pollos expuestos alimentados con anticuerpo de control. En este experimento, no observamos la prevención de una tasa de crecimiento reducida cuando los pollitos recibieron un anticuerpo contra el receptor 1 de IL-10. Sin embargo, se observa una mejora con la administración de un anticuerpo oral contra el receptor 2 de IL-10, lo que indica que el complejo del receptor de IL-10: la unión de IL-10 R2 es fundamental para la
- 25 ruta de señalización antiinflamatoria potencialmente regulada por los coccidios. El sitio de unión de aIL-10 (VLPRAMQT; SEQ ID NO: 39) no está ubicado cerca de la región de unión del receptor de IL-10, por lo que el impedimento alostérico directo del anticuerpo aIL-10 contra IL-10 R1 no explica la capacidad de aIL-10, para neutralizar IL-10. Como se mostró anteriormente en la técnica, un anticuerpo monoclonal contra una secuencia peptídica no contigua en IL-10, que se superpone con la región VLPRAMQT, también mostró que la unión del anticuerpo a esta región específica de IL-10 resultó en una unión no competitiva con el receptor R1 de IL-10. Incluso a través de esta unión no competitiva, el anticuerpo monoclonal pudo neutralizar la función de IL-10. La unión monoclonal fue capaz de interferir con los cambios conformacionales en el complejo IL-10/IL-10 R1. Sin ceñirnos a la
- 30

teoría, planteamos la hipótesis de que la región del péptido de unión aIL-10 no interfiere con la unión de IL-10R1, pero puede inhibir la capacidad del complejo IL-10/IL-10 R1 de unión a IL-10 R2.

La presencia de IL-10 R2 fue mayor que la de IL-10 R1 en el duodeno infectado con *Eimeria* (datos no mostrados). La prominencia de la expresión de IL-10 R2 durante la infección por coccidios puede indicar que tiene un papel adicional durante la invasión y replicación de coccidios. Mientras que IL-10R1 es fiel a IL-10, IL-10R2 es promiscuo e interactúa en otras rutas de señalización de citoquinas, incluidas IL-22, IL-26, IL-28A, IL-28B e IL-29. La administración de un anticuerpo oral contra IL-10 R2 también puede tener un efecto sobre estas rutas de citoquinas relacionadas. Se ha demostrado que la IL-22 impulsa la inmunopatología intestinal asociada con muchos parásitos apicomplejos relacionados, incluyendo *Eimeria falciformis* estrechamente relacionada. La IL-26 de pollo se clonó en 2016 y se descubrió que induce citoquinas proinflamatorias. El papel de la IL-26 durante la infección por *Eimeria* no ha sido bien estudiado, pero se ha asociado con la exacerbación de la patología en una enfermedad parasitaria en humanos, la filariasis linfática. IL-28A, IL-28B e IL-29 forman parte de la cascada de señalización del interferón λ (IFN λ). El papel del IFN λ durante la infección por *Eimeria* no ha sido dilucidado, pero el IFN λ es crítico para el control de parásitos relacionados. La neutralización de IL-10R2 por aIL-10R2:1 y aIL-10R2:2 puede tener un efecto sobre estas rutas de citoquinas proinflamatorias y reducir la inflamación y la inmunopatología asociadas con *Eimeria*, lo que da como resultado los efectos terapéuticos de aIL-10R2:1 y aIL-10R2: 2.

Se observó que aIL-10 R1:5 tiene un efecto negativo sobre la tasa de crecimiento y la conversión del pienso, y dio como resultado un mayor número de ooquistes eliminados por gramo de heces (Tablas 6 y 8). Es probable que el efecto negativo sobre la función de absorción intestinal se deba a la importancia de la señalización de IL-10 para mantener la homeostasis inmunitaria de la mucosa intestinal normal y al aumento de la carga parasitaria que se refleja en el mayor número de ooquistes eliminados por gramo de heces. Los ratones con deficiencia genética para IL-10 se usan como organismo modelo para estudiar la enfermedad de Crohn y exhiben colitis asociada con la ausencia de IL-10 funcional en el intestino. La neutralización del receptor 1 de IL-10 al alimentar aIL-10 R1:5 ejerce efectos similares en los intestinos exhibidos por la falta de ganancia de peso en este estudio. Una razón potencial de los efectos de aIL-10 R1:5 en la ganancia de peso y la conversión del pienso tanto en aves infectadas como no infectadas podría ser potencialmente una sobredosis del anticuerpo, lo que resulta en la incapacidad de mediar adecuadamente en la relación entre el huésped intestinal y la microbiota.

Se demostró que aIL-10 R2:1 y aIL-10R2:2 mejoran potencialmente los síntomas negativos de la coccidiosis. En el estudio 4, estos anticuerpos demostraron efectos positivos sobre la ganancia de peso equivalentes a los estudios previos de aIL-10. Para evaluar el efecto de aIL-10R2:1 y aIL-10R2:2 en comparación directa con aIL-10, se realizó el estudio 5. En el estudio 5, la vacuna contra la coccidia tenía menos de un mes, lo que resultó en una mayor virulencia y tuvo efectos más perjudiciales sobre el peso de los pollitos a la edad de 21 días que en los estudios 1-4 anteriores. Además, se alimentó aIL-10 de alto título en una dosis diez veces superior a la usada comercialmente en la actualidad para ser equivalente en dosis a los anticuerpos aIL-10R2. La dosis alta de aIL-10 probablemente resultó en una sobredosis de anticuerpos evidente en la diferencia de peso medio de 70 gramos de los pollitos entre el control no infectado y los pollitos alimentados con aIL-10 no infectados. Sin embargo, las aves alimentadas con aIL-10 tuvieron una diferencia significativamente menor en la pérdida de peso debido a la infección por coccidios en comparación con el control (Fig. 1), lo que indica que aIL-10 protegió contra la falta de ganancia de peso relacionada con los coccidios a pesar de sus efectos negativos confusos sobre el peso de las aves no infectadas.

En conclusión, IL-10 R2:1 es un inmunoterapéutico anticoccidial alternativo prometedor. Los resultados del estudio 5 indican que aIL-10 es mejor que cualquiera de los anticuerpos IL-10 R2 para reducir el efecto de la infección por coccidios en la ganancia de peso. En estudios futuros, se perfeccionará la dosis de aIL-10 R2:1 y se alimentará a las aves con aIL-10 y aIL-10 R2:1 en combinación para evaluar si la terapia combinada mejora la eficacia y reduce la dosis.

El uso de los términos "un" y "uno, una" y "el, la" y referentes similares (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) deben interpretarse para cubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en este documento o claramente contradicho por el contexto. Los términos primero, segundo, etc., como se usan en este documento, no pretenden indicar ningún orden en particular, sino simplemente por conveniencia para indicar una pluralidad de, por ejemplo, capas. Los términos "que comprende", "que tiene", "que incluye" y "que contiene" deben interpretarse como términos abiertos (es decir, que significan "que incluye, pero no se limita a") a menos que se indique lo contrario. La enumeración de intervalos de valores tiene la intención de servir simplemente como un método abreviado para referirse individualmente a cada valor separado que se encuentra dentro del intervalo, a menos que se indique lo contrario en este documento, y cada valor separado se incorpora a la especificación como si se mencionara individualmente en este documento. Los puntos finales de todos los intervalos se incluyen dentro del intervalo y se pueden combinar de forma independiente. Todos los métodos descritos en este documento se pueden realizar en un orden apropiado a menos que se indique lo contrario en este documento o que el contexto lo contradiga claramente. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o lenguaje de ejemplo (por ejemplo, "tal como"), pretende simplemente ilustrar mejor la invención y no representa una limitación en el alcance de la invención a menos que se reivindique lo contrario. Ningún lenguaje en la especificación debe interpretarse como que indica cualquier elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención como se usa en este documento.

- 5 Si bien la invención se ha descrito con referencia a una realización de ejemplo, los expertos en la técnica entenderán que se pueden realizar diversos cambios y se pueden sustituir elementos de la misma por equivalentes sin apartarse del alcance de la invención como se define en las reivindicaciones. Por lo tanto, se pretende que la invención no se limite a la realización particular divulgada como el mejor modo contemplado para llevar a cabo esta invención, sino que la invención incluirá todas las realizaciones que caigan dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Cualquier combinación de los elementos descritos anteriormente en todas las variaciones posibles de los mismos está abarcada por la invención a menos que se indique lo contrario en este documento o que el contexto lo contradiga claramente.

REIVINDICACIONES

1. Un péptido del receptor 2 de la interleucina-10 unido covalentemente a un péptido portador, en el que el péptido del receptor 2 de la interleucina-10 consiste en una secuencia de 8-15 aminoácidos que incluye una cualquiera de SEQ ID NOs: 4-31
2. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a un péptido del receptor 2 de la interleucina-10, en el que el péptido del receptor 2 de la interleucina-10 consiste en una secuencia de 8-15 aminoácidos que incluye una cualquiera de SEQ ID NOs: 4-31
3. El anticuerpo aislado de la reivindicación 2, en el que el anticuerpo es un anticuerpo IgY.
4. Una yema de huevo deshidratada que comprende un anticuerpo que se une específicamente a un péptido del receptor 2 de la interleucina-10, en la que el péptido del receptor 2 de la interleucina-10 consiste en una secuencia de 8-15 aminoácidos que incluye una cualquiera de SEQ ID NOs: 4-31, en la que el anticuerpo que se une específicamente a un péptido del receptor 2 de la interleucina-10 en la yema de huevo comprende un total de 1 a 10 % en peso de la IgY total en la yema de huevo.
5. Una composición que comprende el anticuerpo aislado de la reivindicación 2.
6. Una composición que comprende yema de huevo deshidratada, en la que la yema de huevo deshidratada comprende un anticuerpo que se une específicamente a un péptido del receptor 2 de la interleucina-10, en la que el péptido del receptor 2 de la interleucina-10 consiste en una secuencia de 8-15 aminoácidos que incluye una cualquiera de SEQ ID NOs: 4-31.
7. La composición de la reivindicación 6, en la que el anticuerpo que se une específicamente a un péptido del receptor 2 de la interleucina-10 en la yema de huevo comprende un total de 1 a 10 % en peso de la IgY total en la yema de huevo.
8. La composición de la reivindicación 5 o la reivindicación 6, en la que la composición está en forma de
 - (i) un aditivo para piensos para animales o un aditivo alimentario,
 - (ii) una composición de pienso para animales que comprende una composición básica de pienso para animales,
 - (iii) una composición alimentaria que comprende una composición alimentaria básica, o
 - (iv) una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable.
9. La composición de la reivindicación 5 o la reivindicación 6 para su uso en un método de reducción de un patógeno transmitido por alimentos o ambiental en los intestinos de un sujeto que lo necesite, comprendiendo dicho método administrar al sujeto dicha composición, en la que el anticuerpo se administra en una cantidad eficaz para reducir el patógeno transmitido por alimentos o ambiental en los intestinos del sujeto.
10. La composición para su uso de la reivindicación 9, en la que el patógeno ambiental es un protozoo, una bacteria, un gusano parásito, un virus o una combinación que comprende al menos uno de los anteriores.
11. La composición para su uso de la reivindicación 9, en la que el sujeto es un pollo, el péptido comprende SEQ ID NO: 14 o 28, y el patógeno transmitido por alimentos o ambiental es una especie de Eimeria, Cryptosporidium, una especie de Salmonella, o una combinación de los mismos.
12. La composición para su uso de la reivindicación 9, en la que el sujeto es
 - (i) un mamífero herbívoro,
 - (ii) un animal de compañía,
 - (iii) un ser humano, o
 - (iv) un pez.
13. La composición para su uso de la reivindicación 12, en la que el mamífero herbívoro es un bovino, un equino, un ovino, un caprino, una cabra, una llama, una alpaca, un venado, un alce o un cerdo.
14. La composición para su uso de la reivindicación 12, en la que el animal de compañía es un perro, gato, conejo, cobaya, minicerdo, hámster o pájaro mascota.

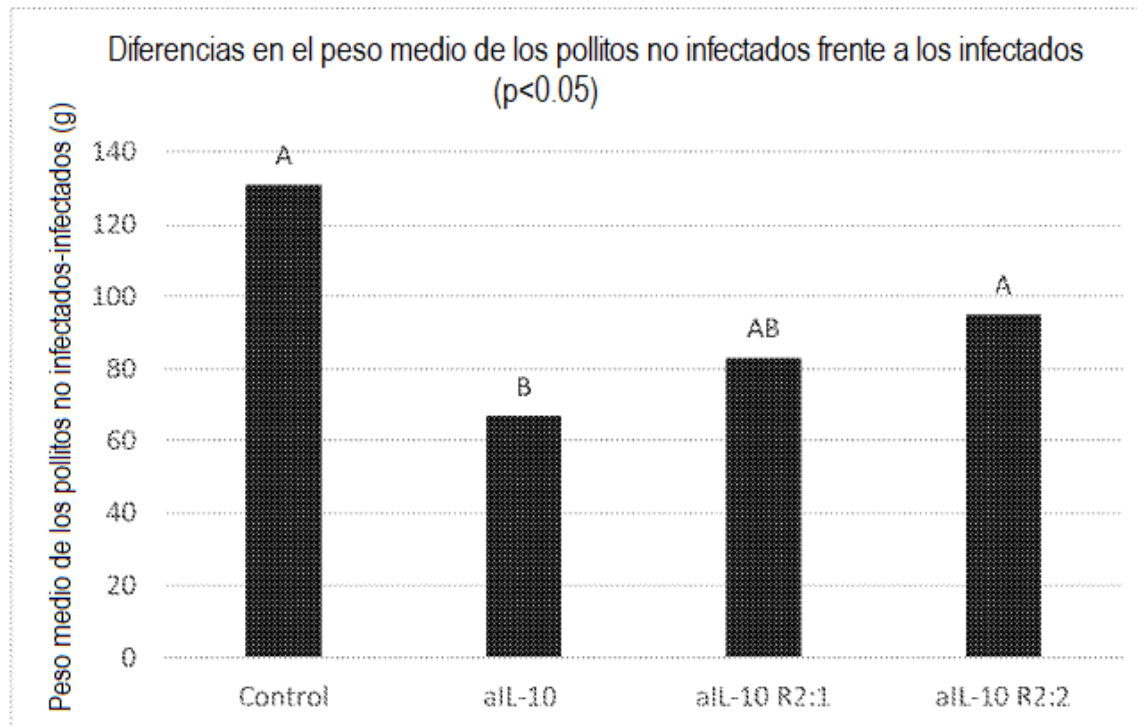


FIG. 1