



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 274 966**

51 Int. Cl.:
C07K 16/14 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02718674 .1**
86 Fecha de presentación : **15.04.2002**
87 Número de publicación de la solicitud: **1379556**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **14.01.2004**

54 Título: **IgY anti-*Pityrosporum ovale* y sus usos.**

30 Prioridad: **14.04.2001 KR 10-2001-0020004**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.06.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.06.2007

73 Titular/es: **Cotde, Inc.**
Seoul Industry Service Center 302
647-26 Deungchon-dong
Gangseo-gu, Seoul 157-030, KR
Lee & Joe Biotech Co.

72 Inventor/es: **Lee, Jong-Hwa;**
Sakong, Jung;
Jang, Dong-Il;
Yu, Chang-Seon;
Jang, Ki-Ho y
Jun, Jin-Hee

74 Agente: **Zuazo Araluze, Alexander**

ES 2 274 966 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

IgY anti-*Pityrosporum ovale* y sus usos.

5 **Antecedentes de la invención**(a) **Campo tecnológico de la invención**

10 La presente invención se refiere a una composición adecuada para prevenir la caspa, en la que dicha composición comprende un anticuerpo de yema de huevo contra *Pityrosporum ovale* que es la causa de la caspa. El anticuerpo se produce separando proteínas específicas de *Pityrosporum ovale*, inmunizando animales con las proteínas, y obteniendo el anticuerpo anti-*Pityrosporum ovale* del animal.

(b) **Descripción de las técnicas relacionadas**

15 *Pityrosporum ovale* es una levadura lipófila que es un miembro de la flora normal en la piel humana, especialmente en el cuero cabelludo. *Pityrosporum ovale* está relacionado con varias enfermedades de la piel, en particular caspa y dermatitis seborreica. Si la razón de *P. ovale* en una flora normal es del 74% o más, el síntoma de caspa se manifestará junto con escamas y producirá picor. Cuando la razón es del 83% o más, aparecerá dermatitis seborreica (Shuster, S.: Br, J. Dermatol, 3, 235 (1984), McGinley, K.J. et al: J Invest. Dermatol. 64, 40(1975)). En caso de que haya un estado de caspa anómalo, la forma de *P. ovale* es en micelio y no en un forma de espora germinales, que lo hace más difícil de tratar. Por tanto, el estado de caspa llega a ser crónico (Mycos 1997: 40 supl.: 29-32).

20 Para mejorar el estado de la piel, se han usado productos que comprenden componentes anticasca tales como ketoconazol, piritiona de zinc, climbazol, y otros. Sin embargo, los componentes de estos productos tienen una especificidad baja por *P. ovale*, eliminando así microorganismos útiles además de *P. ovale*. Por tanto, es muy probable que *P. ovale* pueda convertirse en un microorganismo principal en el cuero cabelludo en estados seborreicos.

30 Hay varios ejemplos anteriores para eliminar un microorganismo patógeno con anticuerpos, especialmente anticuerpo de yema de huevo. Los ejemplos típicos son anticuerpos contra el microorganismo que produce el acné, y la bacteria que induce caries dental (publicación de patente coreana abierta a consulta por el público número 1997-73607). Además, la publicación de patente coreana abierta a consulta por el público número 2000-49499 describe el método de preparación de leche fermentada usando la yema de huevo objeto líquida que mantiene el título del anticuerpo anti-*Helicobacter pylori* y que está dirigida a prevenir la contaminación de microorganismos y levaduras. Además, la leche fermentada está disponible comercialmente (KOREA YAKURT Co., Corea). Sin embargo, hasta el momento no se ha presentado ningún producto o anticuerpo relacionado con *P. ovale*.

Sumario de la invención

40 La presente invención proporciona una composición adecuada para prevenir la caspa, que comprende un anticuerpo de yema de huevo contra *Pityrosporum ovale* como un agente eficaz, en la que el anticuerpo de yema de huevo contra *Pityrosporum ovale* se puede obtener de huevos de una gallina ponedora inmunizada con *Pityrosporum ovale* como un antígeno.

45 **Descripción detallada de la invención**

La presente invención se refiere a una composición adecuada para prevenir la caspa, en la que dicha composición comprende un anticuerpo de yema de huevo contra *Pityrosporum*. El anticuerpo se puede obtener separando proteínas específicas de *Pityrosporum ovale*, inmunizando gallinas ponedoras con las proteínas, y obteniendo el anticuerpo en la yema de huevo.

50 Comparado con las tecnologías anteriores, la presente invención usa el método de preparación de anticuerpo contra *Pityrosporum ovale* que está en la piel o cuero cabelludo y normalmente produce y empeora la caspa, dermatitis seborreica, y dermatitis atópica con el fin de inhibir la proliferación de *P. ovale* o desactivar algunas enzimas secretadas a partir de *P. ovale*. Debido a que el propio anticuerpo es una macromolécula biológica aislada del huevo comestible, apenas tiene efectos perjudiciales comparado con la hormona o agente químico antifúngico. Por tanto, es un material seguro para prevenir y tratar la caspa, dermatitis seborreica, y dermatitis atópica.

60 Según la presente invención, el método de preparación del anticuerpo anti-*P. ovale* comprende las cuatro etapas siguientes:

1. Preparar el antígeno a partir de *P. ovale*;

65 2. Inmunizar gallinas ponedoras con el antígeno para producir yema de huevo que incluye IgY anti-*Pityrosporum ovale*;

3. Aislar la IgY; y

4. Preparar una composición que comprende la IgY contra *P. ovale*.

5 El anticuerpo de la presente invención se puede obtener inmunizando una gallina ponedora con un antígeno (por ejemplo, *P. ovale*) y obteniendo el anticuerpo de sus huevos. El método de inyectar el antígeno y obtener el anticuerpo se conoce bien por un experto en el campo relacionado al que se refiere la presente invención.

10 En la realización preferida de la invención, el antígeno puede ser un extracto bruto o componentes de la pared celular purificados de *P. ovale*. Se notificó que *P. ovale* tiene proteínas únicas de 37 kD y 67 kD en la pared celular que no podían encontrarse en otras levaduras. Los resultados experimentales muestran que un anticuerpo monoclonal contra las proteínas únicas se une a *P. ovale* con actividad de unión del 90% o más (Zargari, A *et al.*, Clin Exp Allergy, mayo de 1997, 2795); págs. 584-92). Por lo tanto, los inventores de la presente invención usaron el extracto bruto de *P. ovale* y los componentes de la pared celular como un antígeno.

15 En la sangre de las aves, hay inmunoglobulinas correspondientes a IgG, IgM, e IgA de los mamíferos en una cantidad de 5,0 mg, 1,25 mg, y 0,61 mg por ml de suero, respectivamente. Las aves ponedoras tienen características de transferencia del componente inmunitario a un polluelo a través de inmunidad pasiva. Como resultado, puede acumularse el anticuerpo en el huevo. De los tres tipos de inmunoglobulinas, sólo IgG permanece en la yema de huevo, y por tanto se denomina IgY (Immunoglobulin yolk (inmunoglobulina de yema de huevo)). La concentración de IgY es aproximadamente de 25 mg por ml de yema de huevo que se sabe que es un anticuerpo policlonal excelente.

20 En comparación con otros métodos para obtener un anticuerpo a partir de los mamíferos, existen ventajas importantes en obtener un anticuerpo específico a partir de la gallina ponedora. Es decir, un único huevo puede contener aproximadamente de 90 a 100 mg de anticuerpo, lo que es comprable a la cantidad contenida en la sangre extraída de un conejo. Es más fácil recoger huevos de gallinas inmunizadas que extraer sangre de mamíferos, y tal recogida de los huevos no requiere sacrificar los animales. Además, puede producirse mucho más anticuerpo debido a que se facilita fácilmente la reproducción a gran escala de pollos inmunizados.

30 En particular, la IgY de la gallina ponedora puede producirse en una cantidad de aproximadamente 40 kg al año, lo que es tanto como ciento veinte veces la cantidad que produce el conejo. Debido a una diferencia filogénica entre las aves y los mamíferos, no es necesario producir una reacción cruzada de IgY de aves con la IgG de mamífero, lo que es muy útil para producir IgY específica para el antígeno de los mamíferos. Por encima de todo, usando la gallina ponedora para producir un anticuerpo, es posible producir repetitivamente un anticuerpo activo estable, con el que se hará posible normalizar los procesos de fabricación e investigar y desarrollar productos.

Las características de la presente invención radican en el uso de huevos que contienen un anticuerpo que inhibe la proliferación de *P. ovale* como componente eficaz para preparar la composición útil para prevenir la caspa.

40 El antígeno según la invención puede inyectarse mediante una administración intramuscular, una hipodérmica, una intravenosa, abdominal u oral. Se prefiere la inyección intramuscular. Una dosis de antígeno administrada puede ser de 10 µg o 1 mg en lo que se refiere a la cantidad de proteína en el antígeno, y depende de la condición o estados de los animales. El antígeno se inyecta repetidamente hasta que la cantidad de anticuerpo alcanza un valor máximo que puede examinarse mediante un cambio en la cantidad de anticuerpo específica en la yema de huevo mediante el método ELISA (Ensayo de inmunoabsorción unido a enzimas (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)).

50 El anticuerpo según la presente invención puede aislarse a partir de los huevos anteriores mediante métodos habituales para aislar un anticuerpo. El huevo en sí puede usarse como un anticuerpo tras secar y convertir en polvo, y comprende además todo el huevo en polvo, la yema de huevo en polvo y la proteína soluble en agua en polvo de la yema de huevo. El anticuerpo podría purificarse a partir de la yema de huevo. El anticuerpo purificado podría usarse para preparar una composición farmacéutica útil para prevenir y tratar la enfermedad de la piel producida por *P. ovale*, especialmente anticapa y dermatitis seborreica.

55 Para examinar los efectos de prevenir y tratar la caspa, dermatitis seborreica y dermatitis atópica de anticuerpo anti-*P. ovale*, se aplicó la prueba a alguien que tiene enfermedades de la piel tales como caspa o dermatitis seborreica y dermatitis atópica con un champú y una fórmula externa. Como resultado, el anticuerpo de yema de huevo contra *Pityrosporum ovale* puede usarse como un componente eficaz para prevenir y tratar la caspa y la dermatitis seborreica a la vez que remite el crecimiento y la actividad de especies de *Pityrosporum*.

60 Se proponen los siguientes ejemplos únicamente para ilustrar la invención y no pretenden limitar el alcance de la invención tal como se define en las reivindicaciones.

Ejemplo 1

65 Cultivo de *P. ovale*

Se cultivó *Pityrosporum ovale* a 37°C durante 3-4 días en el caldo Brucella (Difco) en el que se añadió antibiótico (complemento de Skirrow) y una cantidad pequeña de aceite esterilizado.

ES 2 274 966 T3

Ejemplo 2

Producción del antígeno

5 Se adquirió *P. ovale* de KCTC (colección coreana para cultivos tipo (Korean Collection for Type Cultures)) en la forma liofilizada para obtener el antígeno. Se cultivó *Pityrosporum ovale* en el medio de caldo Brucella (Difco) en que se complementaron antibióticos (complemento de Skirrow) y una cantidad pequeña de aceite esterilizado. Se recogieron las células cultivadas mediante separación por centrifuga a 3000 x g y luego se resuspendieron en solución salina tamponada con fosfato. Tras sonicarse las células, se eliminaron las células que no se rompieron
10 mediante centrifugación a 10.000 x g durante 15 minutos. Luego, se tomó el sobrenadante y se precipitó mediante ultracentrifugación a 100.000 x g durante 30 minutos. Se resuspendieron las células precipitadas en agua destilada y se usó como un antígeno para el experimento siguiente.

Ejemplo 3

Purificación de los componentes de la pared celular

Tras la recogida de las células que se cultivaron en el medio de caldo de Brucella según el ejemplo 1, se enjuagaron las células de tres a cuatro veces con solución salina normal y luego se suspendieron en la solución salina. Se rompieron
20 las células completamente mediante onda ultrasónica. Después, se filtró el líquido celular para separar el componente insoluble de la pared celular con celulosa porosa o maya de nylon o se precipitó mediante centrifugación según el ejemplo 2. Se usó el filtrado o precipitado como un antígeno para el experimento siguiente.

Ejemplo 4

Preparación de yema de huevo que contiene el anticuerpo

Se usaron gallinas (Hy-Line Brown), de 21 semanas de edad que ya habían empezado a poner huevos, para la producción del anticuerpo. Se mezclaron los antígenos obtenidos en los ejemplos 2 y 3 con el adyuvante completo de Freund (Sigma chemical Co) en la misma cantidad y después se emulsionaron. Se inyectó por vía intramuscular 1 ml del antígeno emulsionado en la pata de las gallinas y después se realizó una inmunización de refuerzo 3 veces en seis
30 semanas. Se recogieron los huevos inmunizados para someter a prueba el título de inmunidad y la afinidad de unión al antígeno.

Ejemplo 5

Prueba de la actividad de unión de la IgY

Se usó el método ELISA para decidir el efecto del anticuerpo producido de yema de huevo. Se purificó el anticuerpo
40 de yema de huevo (IgY) que se iba a utilizar mediante el método siguiente.

Se mezclaron 5 ml de yema de huevo líquida con 5 ml de agua destilada y se añadieron a 20 ml de carragenina lambda al 0,15% y se dejó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después, se centrifugó la disolución a 20°C, 3.000 x g, durante 15 minutos, y se tomó el sobrenadante. Se añadió el sobrenadante a sulfato de sodio al 19%
45 (aproximadamente 3 g), se agitó, se dejó 40 minutos a temperatura ambiente, y se centrifugó a 10.000 x g durante 15 minutos para producir el precipitado. Se resuspendió el precipitado en una disolución de tampón fosfato para obtener el anticuerpo.

Se vertieron 1×10^9 células/ml de *P. ovale* en cinco tubos de 10 ml, y se añadieron los dos tipos de anticuerpos en una cantidad de 12,5, 25, 50, y 100 mg/ml en cuatro de los cinco tubos. Se usó como control el tubo sin anticuerpos. Se agitaron las células y se cultivaron a 37°C durante 2 horas. Luego, se tomó 1 ml de la disolución de cultivo, se calentó a 60°C durante 30 minutos, y después se mantuvo fría.

Se midió el resultado de la reacción de anticuerpo mediante el método de titulación ELISA y se muestra en la tabla
55 1.

Tal como se muestra en la tabla 1, la IgY producida con componente de pared celular tiene mayor actividad de unión. Se demostró que la concentración de anticuerpos para reducir el número celular hasta la mitad era de 25 mg/ml.

60

65

ES 2 274 966 T3

TABLA 1

Número de células de P. ovale a diversas concentraciones de IgY

5
10
15
20

Concentración inhibidora (mg)	Concentración celular	
	IgY producida por la pared celular	IgY producida por el extracto bruto
0	$1,01 \times 10^9$	$5,0 \times 10^9$
12,5	$2,4 \times 10^7$	$3,5 \times 10^7$
25	$5,3 \times 10^4$	$2,0 \times 10^5$
50	$2,1 \times 10^3$	$2,8 \times 10^3$
100	$1,8 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$

El método de valoración ELISA se realizó mediante las etapas siguientes

25
30
35
40
45

(1) Diluir *P. ovale* en cada grupo con un tampón de recubrimiento hasta que la concentración de proteína alcance $5 \mu\text{g}/\text{mg}$, $100 \mu\text{l}$ de disolución por pocillo, verter el *P. ovale* diluido en cada pocillo y mantenerlo a 4°C durante 48 horas;

(2) Añadir $100 \mu\text{l}$ de tampón de bloqueo a la disolución y hacer reaccionar a 37°C durante 2 horas;

(3) Enjuagar 3 veces con disolución de lavado;

(4) Diluir la IgY purificada a partir de yema de huevo con tampón de bloqueo a $100 \mu\text{g}/\text{mg}$, verter a $100 \mu\text{l}$ por pocillo y mantener a 4°C durante la noche o incubar a 37°C durante 2 horas;

(5) Enjuagar 5 veces con disolución de lavado;

(6) Diluir el conjugado IgY-AP de cabra anti-pollo con tampón de bloqueo hasta obtener la razón de 1:1000, verter $100 \mu\text{l}$ por pocillo, e incubar a 37°C durante 2 horas;

(7) Añadir $100 \mu\text{l}$ por pocillo del sustrato y hacer reaccionar en la cámara oscura a 30°C .

(8) Enjuagar 6 veces con disolución de lavado;

(9) Añadir $100 \mu\text{l}$ de disolución de parada; y

(10) Leer mediante el lector ELISA (450 nm).

Ejemplo 6

50

Purificación de la IgY producida a partir de la yema de huevo

55
60

Se recogieron los huevos inmunizados que contenían un anticuerpo anti-*Pityrosporum ovale*. Se mezclaron 5 ml de la yema de huevo separada de los huevos con 5 ml de agua destilada y 20 ml de carragenina lambda al 0,15% y se dejó a temperatura ambiente durante treinta minutos. Se tomó el sobrenadante tras la centrifugación a $3.000 \times g$ durante quince minutos a 20°C . Se añadió sulfato de sodio al sobrenadante a la concentración final del 19% y luego se dejó a temperatura ambiente durante cuatro minutos. Después se obtuvo el precipitado centrifugando la disolución resultante a $10.000 \times g$ durante quince minutos, y se solubilizó la disolución con la disolución de tampón fosfato para producir el anticuerpo. Se midió la concentración de proteína en total con el kit BCA (ácido bicinonínico) de reactivo de ensayo de proteína (Pierce). Se obtuvo la concentración de IgY dividiendo la absorbancia medida a 280 nm entre 1,33 del coeficiente de absorción de IgY y se corrigió con una curva patrón de IgY de pollo (Promega).

Ejemplo 7

65

Prueba para el efecto anticaspas de la yema de huevo purificada

Se probó el efecto anticaspas por el método de difusión en disco en la piel. En primer lugar, se inoculó *P. ovale* en una placa de agar y después se cultivó a 37°C durante dos días en condiciones aerobias. El papel del disco se esterilizó

ES 2 274 966 T3

con etanol al 70%, se trató con ketoconazol, piritiona de zinc, climbazol, ácido salicílico, e IgY anticasca en diversas concentraciones y se puso sobre la placa de agar. Se midió el tamaño de la zona de inhibición 3 veces tras incubarlo a 37°C durante 48 horas, y el tamaño medio se muestra en la tabla 2, en la que la zona de inhibición muestra el tamaño de la zona despejada que incluye el tamaño del disco (1,2 cm).

TABLA 2

Resultados del método de difusión en disco en la piel (n=3)

Muestra de prueba		Diámetro de zona despejada (cm)
Material de prueba	Concentración (%)	
Ketoconazol	0	0
	0,5	4,92
	1	5,06
	2	6,37
Piritiona de zinc	0	0
	0,25	4,83
	0,5	5,1
	1	5,1
Climbazol	0	0
	0,25	5,37
	0,5	5,57
	1	5,73
Ácido salicílico	0	0
	0,75	0
	1,5	0
	3	1,4
IgY	0	0
	1	2,78
	2	4,83

Según la tabla 2, el diámetro de la zona despejada del anticuerpo anti-*P. ovale* es mayor que el de compuestos conocidos. Sin embargo, dado que la concentración molar y la tasa de difusión de IgY son bajas en comparación con las de los compuestos conocidos, IgY puede ser más eficaz.

Ejemplos 8 a 11

Champú anticasca que incluye anticuerpo de yema de huevo

Se obtuvo y se probó el champú que contenía anticuerpo anti-*P. ovale* para demostrar el efecto anticasca.

Se disolvió piroctona amina, piritiona de zinc, o IgY en agua destilada añadiendo laurilsulfato de sodio, polioxietilena lauril éter sulfato de sodio, dietanol-laurilamida y propilenglicol en una cantidad tal como se muestra en la tabla 3 y calentando hasta 60°C. Después se enfrió la disolución hasta 40°C, se mezcló con colores, éster de ácido para-benzoico, perfumes, y ácido cítrico y se enfrió hasta temperatura ambiente para producir el champú.

ES 2 274 966 T3

TABLA 3

Fórmula del champú (unidades: porcentaje en peso)

Componentes	Ej. Com. 1	Ej. Com. 2	Ej. Com. 3	Ej. 8	Ej. 9	Ej. 10	Ej. 11
Laurilsulfato de sodio	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Polioxietilencilauril éter sulfato de sodio	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Dietanol-laurilamida	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Propilenglicol	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Piroctona amina	-	0,5	-	-	-	-	-
Piritiona de zinc	-	-	0,5	-	-	-	0,5
IgY	-	-	-	1,0	5,0	10,0	1,0
Colores	Poco	Poco	Poco	Poco	Poco	Poco	Poco
Perfumes	Poco	Poco	Poco	Poco	Poco	Poco	Poco
Ácido cítrico	Poco	Poco	Poco	Poco	Poco	Poco	Poco
Éster del ácido para-benzoico	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Agua destilada	Añadir hasta el 100% en peso						

*Nota: el anticuerpo de yema de huevo se produce purificando según el ejemplo 6.

Ejemplos comparativos 1 a 3

Champú anticasca que contiene anticuerpo de yema de huevo

Para comparar el efecto del champú anticasca usando anticuerpo de yema de huevo contra *Pityrosporum ovale*, se mostró en la tabla 3 la composición del champú que contiene los compuestos conocidos.

Experimento 1

Prueba clínica para el efecto anticasca

Se sometieron a prueba los efectos anticasca y de anti-picor de los champús preparados mediante los métodos de los ejemplos 8-11 y los ejemplos comparativos 1-3.

Se aplicaron durante un mes los champús a cuarenta y nueve voluntarios masculinos y femeninos que tenían problemas con la caspa. Se tomó y se pesó la caspa acumulada después de que los voluntarios se aplicaran un champú de uso común durante tres días. Se aplicó el producto de champú mostrado en la tabla 2 a los mismos voluntarios en días alternos durante 1 mes, y se tomó y pesó la caspa acumulada en tres días. Se tomó la caspa acumulada mediante un dispositivo de succión a vacío del cuero cabelludo.

Se calculó la tasa de caspa según se muestra a continuación.

Tasa de reducción de la caspa (%) = $\frac{\text{el peso de la caspa antes del experimento (mg)} - \text{el peso de la caspa tras 1 mes (mg)}}{\text{el peso de la caspa antes del experimento}} \times 100$.

ES 2 274 966 T3

Se mostraron los resultados de la prueba en la tabla 4.

TABLA 4

Champú	Tasa de reducción promedio	Respuesta (efecto anticasca) (unidad: persona)		
		Sí	No	Desconocido
Ej. Com. 1	5,1	-	7	-
Ej. Com. 2	45,0	5	1	1
Ej. Com. 3	55,7	5	-	2
Ej. 8	43,7	6	-	1
Ej. 9	56,0	7	-	-
Ej. 10	58,2	7	-	-
Ej. 11	58,2	5	-	2

Experimento 2

Efecto anticasca para experimento microbiológico

Se añadieron los materiales del champú en la tabla 3 al caldo de Ym que contenía aceite de maíz en cantidades de 5,00, 1,00, 0,50, 0,10, 0,05, 0,01 y 0,005% en peso, respectivamente para producir el medio de cultivo. Se inocularon 10^5 - 10^6 UFC (unidades formadoras de colonias)/ml de *P. ovale* en el medio de cultivo y se cultivaron durante dos días. Se obtuvo la concentración mínima inhibitoria (CMI) del cultivo. Los resultados de la prueba se muestran en la tabla 5.

TABLA 5

	CMI (%)
Ej. Com. 1	0,5-1
Ej. Com. 2	0,05-0,1
Ej. Com. 3	0,05-0,1
Ejemplo 8	0,01-0,05
Ejemplo 9	0,005-0,01
Ejemplo 10	0,005 o menos
Ejemplo 11	0,005 o menos

Tal como se muestra en los ejemplos anteriores, la presente invención proporciona una composición anticasca que comprende anticuerpo anti-*P. ovale* que se produjo inmunizando gallinas ponedoras con *P. ovale* como un antígeno, y tiene una actividad de inhibición de la proliferación de *P. ovale*.

REIVINDICACIONES

5 1. Composición adecuada para prevenir la caspa que comprende un anticuerpo de yema de huevo contra *Pityrosporum ovale* como un agente eficaz, en la que el anticuerpo de yema de huevo contra *Pityrosporum ovale* se puede obtener de huevos de una gallina ponedora inmunizada con *Pityrosporum ovale* como un antígeno.

10 2. Composición según la reivindicación 1, en la que el antígeno son extractos brutos o el componente de la pared celular de *Pityrosporum ovale*.

15 3. Composición según la reivindicación 1, en la que el antígeno es una proteína de 37 kD o una proteína de 67 kD que es específica para *Pityrosporum ovale* y existe en la superficie de la pared celular de *Pityrosporum ovale*.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65