

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDU

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREA

E. _____ S

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-061147- -00009-0000

Fecha: 2013-05-14 16:56:20 Dep. 2020 DIR.NUEVASOR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 15

Medellín

María Clara Múnera

Re: Expediente No. 10-061.147

Solicitud de Patente de Invención titulada: “PROCEDIMIENTO DE PRODUCCIÓN DE VACUNAS DEL VIRUS DE LA LENGUA AZUL COMPLETO E INACTIVADO”

Solicitante: WYETH FARMA S.A.

Nuestra Ref.: P2010/000072

RESPUESTA AL OFICIO No. 23216, NOTIFICADO POR FIJACIÓN EN LISTA No. 451

DE FECHA 26 DE DICIEMBRE DE 2012

(PRIMER EXAMEN DE FONDO)

CARLOS R. OLARTE, mayor de edad y vecino de Bogotá, identificado tal como aparece al pie de mi firma, en mi carácter de apoderado de la sociedad solicitante, me permito manifestar lo siguiente ante el auto emanado por ese Despacho, dentro del plazo legal de prórroga previsto en el artículo 45 de la Decisión 486, y haciendo uso de la suspensión de términos provista en la Resolución 79218 del 20 de diciembre de 2012, mediante la cual se suspendieron los términos en 2 días, el 24 y 31 de diciembre de 2012, y haciendo uso de la suspensión de términos provista en la Resolución 5540 del 23 de febrero de 2013, mediante la cual se suspendieron los términos en 2 días, el 26 y 27 de marzo de 2013, en los siguientes términos:

1. En primer lugar, con el ánimo de brindar mayor claridad a la materia reivindicada, me permito presentar un **Capítulo Reivindicatorio Modificado**, que reemplaza en su totalidad el Capítulo Reivindicatorio Modificado voluntariamente el 29 de noviembre de 2010.

Así entonces, el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto contiene los siguientes cambios:

- se eliminaron las Reivindicaciones 1 a 13;
- en la nueva Reivindicación 1 (antigua Reivindicación 14) se aclaró que en las etapas a) y d), el VLA se trata con un agente inactivante “mientras que el virus de la lengua azul (VLA) permanece en contacto con los desechos del cultivo celular”;
- en la nueva Reivindicación 1 se eliminaron las proporciones de agente inactivante con respecto al VLA en las etapas a) y d), el tiempo mínimo de homogenización de la mezcla en las etapas b) y e), la opción de decantar la mezcla en un recipiente estéril, y el tiempo de agitación de la mezcla en las etapas c) y f);
- en las nuevas Reivindicaciones 1, 3 y 4 (antiguas Reivindicaciones 14, 16 y 17), se eliminó el término “aproximadamente”.

Valga anotar que las modificaciones efectuadas al Capítulo Reivindicatorio cumplen a cabalidad con lo estipulado en el Artículo 34 de la Decisión 486, ya que éstas de ninguna manera implican una ampliación de la protección correspondiente a la divulgación contenida en la solicitud inicial, por el contrario, éstas corresponden a una franca limitación de la materia inicialmente reclamada.

2. a- La Examinadora señala que las Reivindicaciones 6 y 7 reclaman materia no patentable.

b- Considero superada la anterior objeción en tanto que las Reivindicaciones 6 y 7 han sido eliminadas del Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto.

3. a- La Examinadora solicita que el título sea modificado para eliminar la referencia a procedimientos de uso.

b- En atención a la anterior objeción, me permito modificar el título de la siguiente manera:

“PROCEDIMIENTO DE PRODUCCIÓN DE VACUNAS DEL VIRUS DE LA LENGUA AZUL
COMPLETO E INACTIVADO”

4. a- La Examinadora señala que las Reivindicaciones 1 y 13 definen la composición por los resultados a alcanzar, y que las Reivindicaciones 1 y 2 se refieren a la composición en términos de las etapas necesarias para desarrollar una doble desactivación del virus. Por lo tanto, la

Examinadora sugiere definir el producto por sus características estructurales o funcionales esenciales.

Además, la Examinadora argumenta que las Reivindicaciones 1, 8 y 9 no son claras y concisas, dado que la Reivindicación 1 no indica la naturaleza exacta ni las cantidades de la cepa de un virus de la lengua azul ni del adyuvante. Además, en la Reivindicación 8 se encuentran las abreviaturas "SL-CD" y "SP-Oil", "carbopol", y en la Reivindicación 9 no se define la saponina. Por lo tanto, la Examinadora sugiere definir el serotipo de la cepa presente en la composición dentro de la Reivindicación 1, y el de los demás componentes que equivalen a cada abreviatura señalada.

De otra parte, la Examinadora afirma que el término "aproximadamente" en las Reivindicaciones 10 a 12, 14, 16 y 17 es impreciso e indefinido, por lo cual debería sustituirse por un término preciso o rango concreto.

b- Considero superadas las anteriores objeciones en tanto que las Reivindicaciones originales 1 a 13 han sido eliminadas del Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto.

5. a- La Examinadora señala que la Reivindicación 14 es excesivamente amplia y no está apropiadamente sustentada en el Capítulo Descriptivo, porque no define el virus de la lengua azul (VLA) ni el agente inactivante. Adicionalmente, se caracteriza el procedimiento mediante los resultados a alcanzar, por lo cual sugiere definir el procedimiento mediante sus características técnicas incluyendo los compuestos específicos y las condiciones de las etapas.

b- i) En primer lugar, llamo respetuosamente la atención de la Examinadora sobre el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, en donde las características técnicas esenciales del procedimiento de producción del virus de la lengua azul (VLA) completo e inactivado, se han aclarado como a continuación se resume:

- en la nueva Reivindicación 1 (antigua Reivindicación 14) se aclaró que en las etapas a) y d) el (VLA) se trata con un agente inactivante mientras que permanece en contacto con los desechos de cultivo celular;
- en la nueva Reivindicación 1 se eliminaron las especificaciones de las proporciones de agente inactivante con respecto al VLA en las etapas a) y d), el tiempo mínimo de

- homogenización de la mezcla en las etapas b) y e), la opción de decantar la mezcla en un recipiente estéril, y el tiempo de agitación de la mezcla en las etapas c) y f); y
- por último, se eliminó el término “aproximadamente” de las nuevas Reivindicaciones 1, 3 y 4 (antiguas Reivindicaciones 14, 16 y 17).

ii) Respecto a la definición del virus y del agente inactivante en el procedimiento de producción reclamado, respetuosamente considero que dichas expresiones no afectan la definición apropiada de la invención, puesto que en la Reivindicación 1 (antigua Reivindicación 14), se identifica de manera inequívoca cada uno de los elementos esenciales de la invención reclamada a saber, las etapas de proceso, la secuencia de etapas y las condiciones de procesamiento.

En este punto me permito subrayar que el inventor está en su derecho de reclamar protección para la totalidad de un concepto inventivo desarrollado, sin importar la amplitud de éste, siempre y cuando se conserve el principio de unidad de invención y no haya arte previo que afecte su patentabilidad. Es decir, una reivindicación puede ser tan amplia como se requiera para así poder enmarcar la totalidad del concepto inventivo desarrollado y no solamente las modalidades preferidas o específicamente ejemplificadas en la solicitud.

En importante también aclarar que en las Reivindicaciones no es necesario incluir elementos NO ESENCIALES de la invención reclamada, como son, por ejemplo, todas las condiciones específicas necesarias para llevar a cabo el procedimiento inventivo reivindicado. Por el contrario, y con el fin de presentar claramente las propiedades novedosas e inventivas de la invención, las reivindicaciones deben limitarse a los elementos característicos esenciales que lo diferencian del estado de la técnica. Incluir elementos y condiciones específicas NO ESENCIALES en las reivindicaciones limitaría injustamente el derecho del inventor a reclamar la amplitud del concepto desarrollado.

Vale la pena aclarar el rol del Capítulo Descriptivo, que es el de proveer suficiente información para que una persona versada en la materia pueda eventualmente repetir la invención, y el de las Reivindicaciones, es establecer el alcance de la invención y de la protección otorgada. En éste caso en particular, el Capítulo Descriptivo define diversas condiciones preferidas específicas y la naturaleza del virus y del agente inactivante que intervienen para llevar a cabo el procedimiento reivindicado.

iii) Ahora bien, con respecto al sustento de la modificación realizada en las etapas a) y d) de la nueva Reivindicación 1, donde se aclara que el tratamiento del VLA con un agente inactivante se realiza mientras el virus permanece en contacto con los desechos de cultivo celular, vale la pena señalar que esta modificación podría ser comprendida fácilmente por cualquier persona medianamente versada en la materia, tras la lectura del Capítulo Descriptivo.

Particularmente, en el Capítulo Descriptivo, página 35, se indica que “Cuando el CEP es superior al 60%, los matraces se agitan para facilitar el desprendimiento de la monocapa celular, los cultivos se recogen y se homogenizan y se verifica el pH. Si es necesario, se realiza el ajuste con ácido clorhídrico para obtener un pH de $7,2 \pm 0,2$ y después se inactiva el antígeno final recogido (paso 3)”.

A partir de este párrafo es claro que en el momento de la cosecha, el efecto citopático (CPE) es de más del 60% y esto provoca desprendimiento de monocapa celular que además se facilita mediante la colocación de los matraces en agitación. Por lo tanto, cualquier persona medianamente versada en la materia entendería que los residuos celulares están presentes con el antígeno (virus) cuando se recolectan.

Se afirma que después de la recolección y del ajuste del pH (si es necesario) el antígeno final recolectado se inactiva. Como los métodos para la purificación del virus final son bien conocidos en la técnica (por ejemplo, centrifugación, cromatografía, precipitación, filtración, etc.) y no hay tales métodos de purificación definidos en el procedimiento aquí reclamado, es evidente que el virus no es purificado y por lo tanto está "contaminado" antes de su inactivación.

Lo anterior se hace aún más evidente en el Capítulo Descriptivo, Ejemplo 4, nota bajo la Tabla 12, donde se afirma que la composición viral inactivada sigue siendo un "cultivo completo", es decir, sin purificación.

iii) Finalmente, en cuanto a la mención de resultados a alcanzar en las Reivindicaciones, vale la pena aclarar que, tal como se establece en el “INSTRUCTIVO EXAMEN DE SOLICITUDES DE PATENTES DE INVENCION Y MODELO DE UTILIDAD” de la SIC,

estos pueden ser incluidos en el Capítulo Reivindicatorio siempre que la invención se defina adecuadamente mediante sus características técnicas esenciales.¹

En el presente caso, el procedimiento de producción de la invención se define mediante su secuencia de etapas y las condiciones de proceso, tal como aparece en la Reivindicación 1, por lo que la explicación de que “el procedimiento da como resultado la inactivación del VLA manteniendo al mismo tiempo la inmunogenicidad del VLA”, no genera problemas de claridad en la definición del procedimiento, antes bien, la complementan.

6. a- Con respecto al Capítulo Descriptivo, la Examinadora solicita definir las marcas Alhydrogel®, Montanide TM ISA 206, Drakeol 5, Arlacel 83V (ver páginas 30, 57 y 58), y de otra parte, presentar el Certificado de Depósito para la cepa del virus de la lengua azul del serotipo 4, debido a que se refiere a un material biológico.

b- Considero superada la anterior objeción, en tanto que, adjunto a este memorial, presento las Hojas Sustitutas que reemplazan las páginas 30, 62, 63 y 64 del Capítulo Descriptivo, en las que se incluye el compuesto equivalente a cada una de las marcas señaladas.

Ahora bien, en cuanto al certificado de depósito de material biológico, en tanto que las reivindicaciones no protegen ni se limitan a ningún tipo específico de VLA. Es más, la presente invención no desarrolló ningún serotipo de VLA, ni tampoco el serotipo 4 mencionado en la Descripción, por lo que el Solicitante no realizó los depósitos originales. Así entonces, en el presente caso resulta innecesario proporcionar tales certificados de depósito.

7. a- La Examinadora señala que el documento “Immune Responses and Protective Efficacy of Binary Ethylenimine (BEI)-Inactivated Bluetongue Virus Vaccines”² (D1) afecta la novedad de las Reivindicaciones 1 a 3, 5, 8, 9 y 13, y el nivel inventivo de las Reivindicaciones 4, 10 a 12 y 14 a 18. Además, la Examinadora afirma que los documentos “Molecular Epidemiology of Bluetongue Virus Serotype 4 Isolated in the Mediterranean Basin between 1979 and 2004”³ (D2) y “Reintroduction of Foot-and-Mouth Disease in Argentina: Characterization of the Isolates and

¹ INSTRUCTIVO EXAMEN DE SOLICITUDES DE PATENTES DE INVENCION Y MODELO DE UTILIDAD. Sección 2.6.5.8.

² Ramakrishnan M. A. *et al*, "Immune Responses and Protective Efficacy of Binary Ethylenimine (BEI)-Inactivated Bluetongue Virus Vaccines in Sheep" *Veterinary Research Communications*, vol. 30, no. 8, 1 November 2006 (2006-11-01), pages 873-880.

³ Breard E. *et al*, “Molecular Epidemiology of Bluetongue Virus Serotype 4 Isolated in the Mediterranean Basin between 1979 and 2004”, *Virus Research* 125 (2007) 191–197.

2

Development of Tools for the Control and Eradication of the Disease”⁴ (D3), afectan el nivel inventivo de las Reivindicaciones 4, 10 a 12 y 14 a 18, respectivamente.

i) Con respecto a la novedad, la Examinadora señala que D1 divulga todas las características esenciales de la Reivindicación 1, por ejemplo, una vacuna que comprende una cepa de virus de la lengua azul inactivado con un adyuvante.

D1 enseña que la inactivación se lleva a cabo con etilenimina binaria y divulga composiciones adyuvantes tales como gel de hidróxido de aluminio, saponina y una combinación de estos.

ii) Con respecto al nivel inventivo, la Examinadora argumenta que D1 divulga una cepa diferente (cepa 18) comprendida en una composición inmunogénica.

D1 divulga diferentes serotipos de VLA, y D2 divulga que el serotipo 4 de VLA fue previamente aislado en diferentes países.

La Examinadora concluye que cualquier persona medianamente versada en la materia podría haber logrado la composición de las Reivindicaciones 4 y 10 a 12, siguiendo las enseñanzas de D1 y D2.

En cuanto a la Reivindicación 14, la Examinadora afirma que D1 revela el proceso de inactivación usando etilenimina por 48 horas, y la adición de tiosulfato de sodio para detener la inactivación.

La Examinadora presenta un cuadro comparando las características técnicas del procedimiento aquí reclamado con el procedimiento divulgado en D1, y concluye que la diferencia entre la presente invención y D1 consiste en que la invención aquí reclamada incluye una doble inactivación.

Sin embargo, la Examinadora afirma que D3 ya sugería procesos de doble inactivación de ciertas cepas. Por lo tanto, concluye que cualquier persona medianamente versada en la materia siguiendo las enseñanzas del arte previo podría haber logrado de manera obvia el procedimiento de la invención, considerando la doble inactivación del virus sugerida en D3 en el procedimiento divulgado en D1.

⁴ Mattion N *et al*, "Reintroduction of Foot-and-Mouth Disease in Argentina: Characterization of the Isolates and Development of Tools for the Control and Eradication of the Disease", Vaccine, vol. 22, no. 31-32, 22 October 2004 (2004-10-22), pages 4149-4162.

Adicionalmente, la Examinadora concluye que no hay evidencia de que se logre algún efecto técnico sorprendente debido a las concentraciones del agente inactivante, ni por el serotipo de la cepa del VLA.

b- i) En primer lugar, llamo respetuosamente la atención de la Examinadora sobre las limitaciones realizadas en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, en donde se han eliminado las Reivindicaciones 1 a 13, y ahora únicamente se reclama un procedimiento de producción del virus de la lengua azul (VLA), completo e inactivado, que se ha especificado tal y como se indicó en los puntos 1 y 5.b del presente memorial.

ii) Ahora bien, con respecto a las objeciones de nivel inventivo realizadas al por la Examinadora, con base en D1 y D3, al procedimiento aquí reclamado, me permito resaltar lo siguiente:

- el objetivo de la presente invención es desarrollar un procedimiento de producción que permita obtener una vacuna mucho más económica de producir y aún se mantenga en condiciones seguras, con lo cual se logra un producto más económico para los agricultores;
- la vacuna lograda a través del procedimiento aquí reclamado contiene el virus inactivo cuando se encuentra aún en estado impuro y dicha vacuna sigue siendo impura cuando se realiza el envasado final;
- D1 se refiere a una cepa de VLA diferente a la considerada en la presente invención;
- D3 se refiere a la caracterización molecular y antigénica del virus (FMDV) y por lo tanto, no se refiere a virus relacionados con las vacunas producidas a partir del procedimiento de la presente invención;
- en D1, el procedimiento comprende solo una etapa de inactivación comparada a las dos etapas de la presente invención;
- en los procedimientos de D1 y D3, se añade el agente inactivante sólo cuando el virus se encuentra en un estado de alta pureza.

Tal como se indicó en el numeral 5.b del presente memorial, el procedimiento de producción aquí reclamado permite que el virus se encuentre impuro y contaminado con los restos de las células del cultivo.

Considerando nuevamente los Ejemplos incluidos en el Capítulo Descriptivo de la presente solicitud, es notable que el virus de VLA se encuentre impuro cuando está inactivado, y por lo tanto, ni D1 ni D3 podrían predecir que el proceso de inactivación en dos etapas opere con éxito sobre el virus contaminado.

Dado que el virus en D1 está bastante puro cuando se añade el BEI para inactivarlo, esencialmente todo el agente inactivante está disponible para funcionar sobre el virus, mientras que en el procedimiento reclamado, la cantidad considerable de desechos celulares del cultivo (a partir de las células en las que el virus crece) supera enormemente la del virus, y por lo tanto, es verdaderamente sorprendente que haya suficiente acción del BEI sobre el virus como para lograr inactivarlo.

En otras palabras, en nuestro procedimiento de producción, la mayor parte de la BEI debería reaccionar químicamente con los desechos celulares y no habría expectativa razonable a partir de D1 o D3 (que operan sólo en un virus puro) de que quedara suficiente BEI restante como para neutralizar el virus, ya que en su lugar, la mayoría de BEI debería adherirse a los desechos celulares (lo anterior está basado simplemente en las cantidades relativas de los desechos celulares y virus disponible).

Así, a partir de las enseñanzas del arte previo, cualquier persona medianamente versada en la materia reconocería que, a menos que el virus fuera altamente purificado, entonces habría un riesgo significativo de que una parte sustancial de la reactividad del agente de inactivación (BEI) se desperdiciara por reacción con las macromoléculas de los desechos celulares.

Dado que en el procedimiento reclamado hay un gran exceso de masa de desecho celular sobre el virus, a partir del arte previo la persona medianamente versada en la materia tampoco podría predecir las dosis necesarias para inactivar eficazmente el virus en condiciones impuras.

No sobra resaltar que operar sobre un virus impuro tal como en el procedimiento de la invención, no fue logrado a partir de análisis de rutina, y de hecho, es una característica esencial debido a que el producto final se puede obtener a un costo mucho menor de lo convencional, lo cual es importante en el sector ganadero ya que las vacunas deben ser tan baratas como sea posible.

En conclusión, ninguna de las referencias citadas por la Examinadora, solas o en combinación, divulgan o anticipan procedimientos donde los virus se encuentren contaminados por los desechos

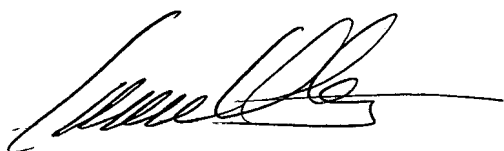
de las células del cultivo antes de la adición en dos etapas del agente de inactivación y mucho menos permitirían predecir razonablemente que el proceso de la presente solicitud podría tener un funcionamiento óptimo.

Así las cosas, me permito afirmar que la Examinadora simplemente encuentra elementos específicos en el arte previo, y los combina de manera arbitraria para encajar en la presente invención, sin considerar el arte previo y la presente invención como un todo.

A la luz de lo anterior, y según los lineamientos del Manual Andino de Patentes (MAP), debe reconocerse que las invenciones en el campo de la química tienen nivel inventivo cuando tienen una estructura inesperada (no derivable por la persona medianamente versada en la materia), o presenten un efecto técnico inesperado o mejorado impredecible del arte previo.⁵ En el presente caso, no solo las etapas y condiciones del procedimiento de producción son inesperadas, sino también el efecto técnico logrado por el mismo, lo que es una clara evidencia de nivel inventivo.

8. Por todo lo anterior, considero que las objeciones presentadas por la Examinadora en su examen de fondo, han sido resueltas y por consiguiente solicito respetuosamente que el Despacho tenga por cumplidos los requisitos de patentabilidad y proceda con la concesión de la patente.

Atentamente,



CARLOS R. OLARTE

C.C. No. 79.782.747 de Bogotá

T.P. 74.295

Anexo:

- Capítulo Reivindicatorio Modificado.
- Hojas Sustitutas 30, 62, 63 y 64 del Capítulo Descriptivo.

⁵ Manual Andino de Patentes. (2004). Sección 10.8.1 (disponible en <http://www.comunidadandina.org/public/patentes.pdf>).

CAPITULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

(Primer Examen de Fondo)

1. Un procedimiento de producción del virus completo e inactivado de la lengua azul (VLA), comprendiendo el procedimiento las etapas de:
 - a) tratar el VLA con un agente inactivador, mientras que el virus permanece en contacto con los desechos de cultivo celular;
 - b) homogeneizar la mezcla de agente inactivador/VLA de la etapa a);
 - c) agitar la mezcla;
 - d) tratar el VLA una segunda vez con un agente inactivador, mientras que el virus permanece en contacto con los desechos del cultivo celular;
 - e) homogeneizar la mezcla del agente inactivador/VLA de la etapa d);
 - f) agitar la mezcla de la etapa e); y
 - g) neutralizar el agente inactivante para ajustar el pH final a 7,2;en el que el procedimiento da como resultado la inactivación del VLA manteniendo al mismo tiempo la inmunogenicidad del VLA.
2. El procedimiento de la Reivindicación 1, en el que el agente inactivador es etileneimina binaria (EIB).
3. El procedimiento de la Reivindicación 1, en el que la concentración final de agente inactivador en la etapa a) es de 10 mM.
4. El procedimiento de cualquiera de las Reivindicación 1, en el que la concentración final de agente inactivador en la etapa d) es de 5 mM.
5. El procedimiento de la Reivindicación 1, en el que el virus completo de la lengua azul es de serotipo 4.



adecuados, tales como etanol o propilenglicol, pueden usarse para aumentar la solubilidad de los ingredientes en la formulación y la estabilidad de la preparación líquida. Los aditivos adicionales que pueden emplearse en la presente vacuna incluyen, pero sin limitación, dextrosa, antioxidantes convencionales y agentes quelantes convencionales tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Las formas farmacéuticas parenterales también deben esterilizarse antes del uso.

Adyuvantes

El virus de la lengua azul dos veces inactivado puede suministrarse con un adyuvante. En una realización, la vacuna es un VLA completo y dos veces desactivado/inactivado, que se administra con un adyuvante. Un adyuvante es una sustancia que aumenta la respuesta inmunológica del animal contra la vacuna. El adyuvante puede prepararse al mismo tiempo y en el mismo sitio que la vacuna o en un momento diferente, por ejemplo, como un refuerzo. Los adyuvantes también pueden administrarse ventajosamente al rumiante de una manera o en un sitio diferente de la manera o del sitio en el que se administra la vacuna. Los adyuvantes adecuados incluyen, pero sin limitación, hidróxido de aluminio (alum), Alhydrogel® (suspensión de gel húmeda de hidróxido de aluminio esterilizada libre de pirógenos, Brenntag Biosector, Frederikssund, Dinamarca), complejos inmunoestimulantes (ISCOMS), polímeros o copolímeros de bloque no iónicos, citocinas (de tipo IL-1, IL-2, IL-7, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , etc.), saponinas (incluyendo Quillaja A o Quil A ((Brenntag Biosector, Frederikssund, Dinamarca), lípido monofosforil A (MLA), muramil dipéptidos (MDP) y similares. Otros adyuvantes adecuados incluyen, por ejemplo, sulfato de potasio y aluminio, enterotoxina termoinestable o termoestable aislada de *Escherichia coli*, toxina del cólera o la subunidad B de la misma, toxina de la

13

* ensayo SN: Basado en el ensayo SN en células Vero descrito por el OIE con pequeñas modificaciones. El objetivo de esta técnica es determinar la mayor dilución en suero que es capaz de bloquear la infección de 100 TCID₅₀ de VLA en células Vero. Se realizaron dos lecturas: considerando un 100 % de reducción de efecto citopático y un 90 % de reducción de efecto citopático.

EXPOSICIÓN

De acuerdo con los resultados del ELISA, las vacunas formuladas con SP-oil y Drakeol (Aceite mineral blanco) no se consideraron para una exposición. Basándose en los resultados de seguridad de los experimentos anteriores, también se descartaron las vacunas formuladas con Montanide™ ISA 206.

Los corderos vacunados con los lotes K1, K2, K7 y K8 se expusieron a los 24 días después de la revacunación. Se incluyó un grupo de 5 controles no vacunados.

Tabla 15. Resultados de exposición

Lote de Vacuna	TCID ₅₀ (dosis de 2 ml)	CONCENTRACIÓN DE ADYUVANTE (dosis de 2 ml)	Nº DE ANIMALES EXPUESTOS	ANIMALES QUE MUESTRAN VIREMIA EN %
K1	3 x 10 ⁶	4 mg de Al ³⁺ 0,4 mg de Quil-A	7	*14 %
K2	1 x 10 ⁷	4 mg de Al ³⁺ 0,4 mg de Quil-A	5	0 %
K3	3 x 10 ⁶	SP-Oil al 5 %	-	-
K4	1 x 10 ⁷	SP-Oil al 5 %	-	-

Lote de Vacuna	TCID ₅₀ (dosis de 2 ml)	CONCENTRACIÓN DE ADYUVANTE (dosis de 2 ml)	Nº DE ANIMALES EXPUESTOS	ANIMALES QUE MUESTRAN VIREMIA EN %
K5	3 x 10 ⁶	Montanide™ ISA 206 al 50 %	-	-
K6	1 x 10 ⁷	Montanide™ ISA 206 al 50 %	-	-
K7	3 x 10 ⁶	Montanide™ ISA 207 al 50 %	7	71 %
K8	1 x 10 ⁷	Montanide™ ISA 207 al 50 %	5	80 %
K9	1 x 10 ⁷	Drakeol 5- Arlachel 83V al 60 %	-	-
No vacunado	-	-	5	80 %

Se detectó virus de lengua azul (VLA) en muestras de sangre por reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR)

*2 resultados no concluyentes consecutivos.

Arlachel 83 V corresponde al ácido (Z)-octadec-9-enóico o al (2R,3R,4R,5S)-hexano-1,2,3,4,5,6-hexol.

CONCLUSIONES

La única vacuna capaz de prevenir la viremia era el lote K2 formulado con 1 x 10⁷ TCID₅₀/dosis y Alhydrogel y Quil-A como adyuvante. La viremia fue detectable solamente en 1 de 5 animales vacunados con el lote K1 formulado con el mismo adyuvante pero con una menor concentración de antígeno (3 x



- 10⁶ TCID₅₀/dosis).
- Los resultados obtenidos con los lotes de vacuna K7 y K8 formulados con Montanide™ ISA 206 (Seppic, adyuvante de vacuna oleosa basado en aceite mineral inyectable de alto grado) no fueron satisfactorios.

No se dispone de resultados de exposición para Montanide™ ISA 207 (Seppic) que muestren resultados serológicos similares.

EJEMPLO 5. COMPOSICIÓN DE VACUNA FINAL

Tabla 16

Ingredientes	Cantidad / ml	Función	Referencia con respecto a los patrones
Sustancias activas	1,5 x 10 ⁶ TCID ₅₀	Antígeno	Monografía Interna
Virus de lengua azul inactivado y neutralizado (VLAi), mínimo			
Componentes del Adyuvante	192,6 mg (2 mg de Al ³⁺)	Adyuvante	Monografía Interna
Alhydrogel al 2 %	200 µg	Adyuvante	Monografía Interna
Quil-A			
Componentes del Excipiente:	0,1 mg	Conservante	Monografía de la Farmacopea Europea n°1625, Edición actual Monografía Interna
Thiomersal			
Solución salina	cs hasta 1 ml	Diluyente/excipiente	