



No. 11-063979- -00000-0000

Fecha: 2011-05-24 14:55:44 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 54

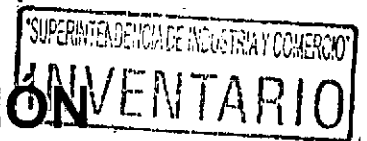


Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION



11-63979

21. EXPEDIENTE N°

54. TÍTULO NUEVAS COMPOSICIONES DE VACUNAS CON
PERTUSSIS ACELULAR Y MÉTODO DE FABRICACIÓN DE LAS
MISMAS.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 39/05

71. SOLICITANTE PANACEA BIOTEC LTD.

DOMICILIO Mathura Road, New Delhi, India

74. APODERADO DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

22. BOGOTÁ, D.C. _____

24-05-2011



No. 11-063979- -00000-0000

Fecha: 2011-05-24 14:55:44 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEI/II Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 54

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1

SOLICITUD DE:

☒

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☐

Capítulo I.

☒

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: PANACEA BIOTEC LTD.
Dirección: B-1 Extn./ A-27, Mohan
Co-operative Industrial Estate, Mathura Road,
New Delhi-110044, India
Nacionalidad o domicilio: New Delhi, India
Lugar de Constitución:
Teléfono: **Fax:**
E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)

Nombre: DILIA MARÍA RODRÍGUEZ
D'ALEMAN
Dirección: Carrera 11 No. 86-53, piso 6
Teléfono: 6 181088 **Fax:** 6350824
E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Número 41.654.882
TP 20824 CSJ

4

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER HOJA ANEXA
Dirección:
Nacionalidad o domicilio:

5 **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. PCT/IN2009/000600 Fecha 23 de octubre de 2009

Publicación Internacional No. WO 2010/046935 A1 Fecha 29 de abril de 2010

6 **TÍTULO (54)** NUEVAS COMPOSICIONES DE VACUNAS CON PERTUSSIS ACELULAR Y
MÉTODO DE FABRICACIÓN DE LAS MISMAS.

7 **Clasificación Internacional (51)** A61K 39/05

8 **Prioridad**

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen
India

(32) Fecha
24 de octubre de 2008

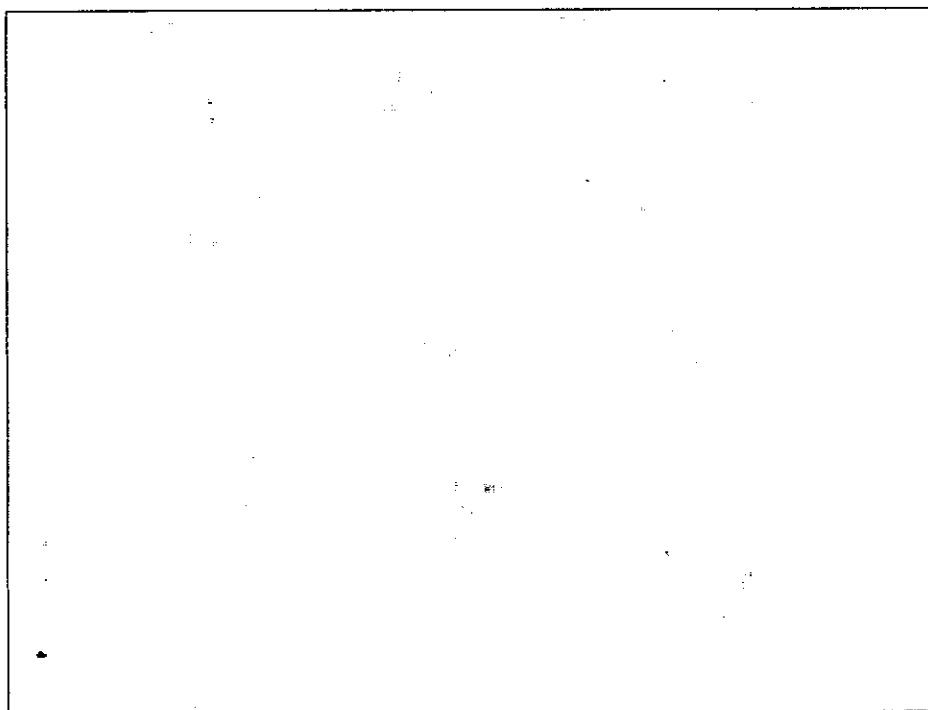
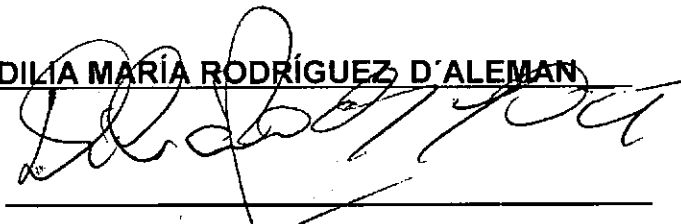
(31) Número de Solicitud
2438/Del/2008

9 **Comprobante de pago No.** 11-36001 // 11-36024 // 11-36293

Fecha 15 de abril de 2011

Recubi: 11
2011-09-15/12h50

- ☐ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes si fuere el caso
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones Regla 4.17
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☐ Otros

11 FIGURA CARACTERÍSTICA**12 Solicito la concesión de la patente**NOMBRE : DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMANFIRMA: 

C.C. 41.654.882

T.P. 20824

ANEXOS

INVENTORES

1.) JAIN, Rajesh

(B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044, India);

2.) SINGH, Sukhjeet

(B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044, India);

3.) JAMBU, Lavit

(B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044, India);

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0036001

Bogotá D.C., Abril 15 de 2011 - 18:03:59

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431342063	15/04/2011	108.185.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	571.000.00	571.000.00
				\$571.000.00
			=====	

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-063979- -00000-0000

Fecha: 2011-05-24 14:55:44 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 54

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Abril 15 de 2011 - 18:06:29

3

P-2884

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0036024

Bogotá D.C., Abril 15 de 2011 - 18:03:59

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431342063	15/04/2011	108.185.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	500.000.00	500.000.00
				\$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-063979- -00000-0000

Fecha: 2011-05-24 14:55:44

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 379 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 54

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Abril 15 de 2011 - 18:06:30

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0036293

Bogotá D.C., Abril 15 de 2011 - 18:03:59

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431342063	15/04/2011	108.185.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	VR. UNDITARIO	VR. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	21 CERTIFICACIONES	14.000.00	14.000.00
				\$14.000.00

SON: **CATORCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-063979- -00000-0000

Fecha: 2011-05-24 14:55:44 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eva: 379 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 54

5

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C. - Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Abril 15 de 2011 - 18:06:38

COLOMBIA

Carrera 11 N° 86-53 Piso 6 Bogotá Colombia Tel: (57 1) 6181088 Fax: (57 1) 6350824 Email: info@clarkemodet.com.co

P-4-105

PODER

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales de PANACEA BIOTEC LTD.

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de

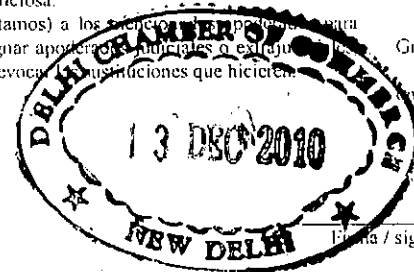
y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044-India.

por el presente instrumento confiero (conferimos) poder especial a favor de DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá, y tp. 20824 y CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, con Cédula de Ciudadanía No. 40.017.374 de Tunja, y tp. 36448, con domicilio en Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos:

- 1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad; diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enseñas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
- 3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella).
- 5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.
- 6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, comprometer en árbitros, desistirse, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistirse a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.
- 7) Ratificar o no la agencia oficiosa.
- 8) Así mismo faculto (facultamos) a los señores mandatarios para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales para sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hicieren.

Dado y firmado en

los días de



POWER OF ATTORNEY

I, the undersigned Prem Singh Panwar

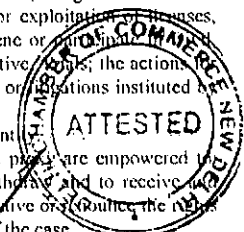
legal representative(s) of PANACEA BIOTEC LTD.

an organization existing under the laws of India

and in present execution of its business activity, domiciled B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044-IN.

do hereby grant POWER OF ATTORNEY to DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, identification card No. 41.654.882 of Bogotá, and tp. 20824 and CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, tp. 36448, identification card No. 40.017.374 of Tunja, residing in Bogotá, Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

- 1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models; Designs, plant varieties; Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
- 3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above-mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtaining or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or be intervened in Commercial, Criminal or Contentious-Administrative suits; the actions of writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or arbitrations instituted by the grantor or against him.
- 5) To register domain names before the competent entity.
- 6) To the effect of this mandate the above-named parties are empowered to conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related object and waive or abandon the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
- 7) To ratify or not the officious agency.
- 8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such substitutions.



Como Notario Once (E) del Circulo de Bogotá, D.C., hago constar que esta FOTOCOPIA coincide con su Original que he verificado.

Granted and signed at New Delhi

18 ABR 2011
day of December of 2010

Nelson J. Sanchez
For Panacea Biotech Ltd.
BOGOTA D.C.

PREM SINGH PANWAR
Sr. Manager
Intellectual Property & Legal Affairs
B-1 Extn. A-27 Mohan Co-operative Indl. Estate,
Mathura Road, New Delhi - 110 144

(JASPREM SINGH)
Asstt. Secretary
Delhi Chamber of Commerce
New Delhi



4 DEC 2010

PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE US\$ 10
PAGADOS DERECHOS CONSULARES US\$ 20

CONSULADO DE COLOMBIA
NUEVA DELHI

No. 2120/10

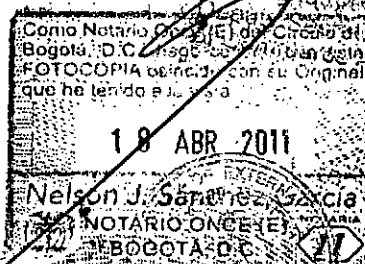
El suscrito Cónsul de Colombia CERTIFICA
que el señor R. P. MORDHWAI
que autoriza el presente documento, ejerce
legalmente en la fecha allí expresada las
funciones de Minister of External
Affairs (C.I.) New Delhi
y que la firma y sello que en el documento
aparecen como suyos son los que usa y
acostumbra en sus actos oficiales.
El Cónsul no asume responsabilidad alguna
por el contenido del documento.

Lina María Fajardo.
LINA FAJARDO
Counsellor

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
2010 DIC 20 16:13
JEFE DE LEGACIONES
BOGOTÁ D.C.

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

630233
Lina Fajardo
COTA FISHA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS



No. 295150
वाणिज्य मण्डल में सहायक सचिव/उप सचिव
सचिव के सहायक सचिव/उप सचिव
दिये जाते हैं।
Date
FOTOCOPIA otorgada con el Original
que ha tenido a su cargo

14 DEC 2010
(R. P. MORDHWAI)
(R. P. MORDHWAI)
असल सचिव/उप सचिव (ओ.आई.)
Ministry of External Affairs
New Delhi

CERTIFICADO NOTARIAL

(Cuando el solicitante es SOCIEDAD)

(Poderes otorgados en: El Salvador, Estados Unidos, México y Venezuela)

A los _____ días del mes de _____ de _____
el Notario que suscribe DA FE de que:

1. _____
(nombre de la persona que firma el poder)
mayor de edad y domiciliado _____
_____ firmó de su puño
y letra el documento que antecede.
2. Conoce al (a la) otorgante y que este (a) está legalmente capacitado para el otorgamiento.
3. El otorgante ha firmado el referido documento en su carácter de _____
de la persona jurídica PANACEA BIOTEC LTD.

4. La citada persona jurídica con sede en B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044-India, está legalmente constituida, que tiene actualmente existencia legal y que el acto para el cual se ha otorgado este poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.
5. El otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta, que esta es legítima y que está facultado para otorgar este poder.
6. las anteriores certificaciones de los puntos 3, 4 y 5, me constan porque he tenido a la vista los documentos auténticos.

Notario Público

NOTA: A continuación de lo anterior, el Consúl de Colombia debe autenticar la firma del Notario Público.

CERTIFICADO NOTARIAL (Cuando el solicitante es INDIVIDUO)

A los _____ días del mes de _____ de _____
el Notario que suscribe DA FE de que:

1. _____
(nombre de la persona que firma el poder)
mayor de edad y domiciliado en _____
_____ firmó en su presencia
el documento que antecede, conoce al otorgante y que este está legalmente capacitado para el otorgamiento.

Notario Público

NOTA: A continuación de lo anterior, el Consúl de Colombia debe autenticar la firma del Notario Público.

Para todos los demás países el Señor Consúl de Colombia o ante quien se otorgue, debe expedir una certificación dejando constancia 1) de la existencia legal de la sociedad, 2) de que esta ejerce actualmente su objeto social, y 3) de que la persona o personas que otorgan el poder están facultadas para hacerlo, dejando constancia así mismo de que tuvo a la vista las pruebas que acrediten tales circunstancias.

LEGALIZACIÓN POR EL CONSUL DE COLOMBIA
O POR APOSTILLA

NOTARIAL CERTIFICATE

(When the applicant is a CORPORATION)

(Powers of attorney granted in: El Salvador, Mexico, U.S.A. and Venezuela)

This 1st day of December, 2010
the undersigned Notary CERTIFIES that:

1. _____
(name of the person who signs the power of attorney)
of _____ legal age and _____
domiciled in _____ India _____
set his hand on the foregoing document.
2. The grantor is to him personally known and that he/she has legal capacity to execute the document.
3. The grantor has executed the foregoing document in his capacity of _____ Senior Manager - Intellectual Property & Legal Affairs
of the juridical PANACEA BIOTEC LTD.

4. The mentioned juridical person with place of B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044-IN, is duly organized, has actual legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.
5. The grantor has in fact the referred quality and that his/her representation is legal and that he/she is empowered to grant this power of attorney.
6. I have based the above certifications 3, 4 and 5, on the authentic documents which for each purpose were exhibited to me.

Notary Public

NOTA: Then the Colombian Consul must legalize the signature of the Notary Public.

NOTARIAL CERTIFICATE (When the applicant is an INDIVIDUALS)

On this _____ day of December, 2010
the undersigned Notary CERTIFIES that:

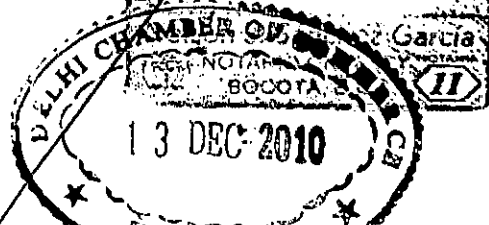
1. _____
(name of the person who signs the Power of Attorney)
of legal age and domiciled at _____ India _____
signed in his presence the foregoing
document, the grantor is to him personally known and that he/she has legal capacity to execute the document.

Notary Public

NOTA: Then the Colombian Consul must legalize the signature of the Notary Public.

For all other countries the Colombian Consul or before who it is granted must issue a certification stating 1) the legal existence of the corporation, 2) that the corporate purposes are actually being accomplished, 3) that the person or persons who grant this Power of Attorney are empowered to do it. The Consul will certify that the documents evidencing these circumstances were exhibited to him/her.

LEGALIZATION BY THE COLOMBIAN CONSUL OR BY APOSTILLE.



9 DEC 2010

Traducción oficial de un documento cuyo original esta en inglés

El Documento de Poder adjunto lleva los siguientes sellos:

Sello redondo pequeño: "Certificado - Cámara de Comercio de Nueva Delhi"

Sello pequeño bajo la firma: "Jasprem Singh, Subsecretario Cámara de Comercio de Nueva Delhi"

Sello Rectangular: "Por Panacea Biotech Ltd. (firmado) Prem Singh Panwar. Gerente. Propiedad Intelectual y Asuntos Legales. B-1 Extn. A-27, Mohan Co-operative Indl. Estate. Mathura Road, New Delhi - 110 044"

Sello ovalado (2): "Cámara de Comercio de Nueva Delhi - DIC. 13, 2010. Nueva Delhi"

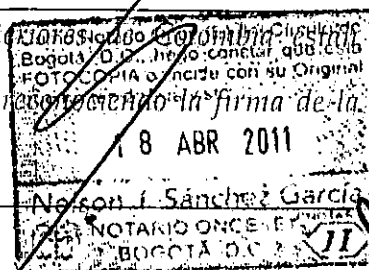
Sello redondo (2): "Notario Público. Nombre: Sra. Rani Ridla. L. No. 1471. Gobierno de la India"

"Certificado (Firmado) Notario Público. Nueva Delhi - DIC. 9, 2010".

Al reverso de la página hay un sello del Consulado de Colombia en Nueva Delhi, con No. 2120/10 fechado el 21 de diciembre de 2010 y firmado por Lina Fajardo, Consejera.

Hay un sello con número 29515 fechado el 14 de diciembre de 2010 y firmado, en caracteres de la India, del Ministerio de Relaciones Exteriores en Nueva Delhi.

Los sellos de legalización del Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia, fechados el 29 de diciembre de 2010; su número es "630233, *reafirmando la firma de la* Cónsul Lina Fajardo.



Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Minjusticia

Certificación:

Certifico que la presente es una traducción auténtica y completa del inglés al español del documento adjunto, la cual he elaborado según mi leal saber y entender.

Documento: "Panacea Biotech Ltd. - Sellos"

Fecha: 29 de diciembre de 2010.

Traductor: Jorge Enrique Sierra Reyes (Sello y firma digital debidamente registrados ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia)

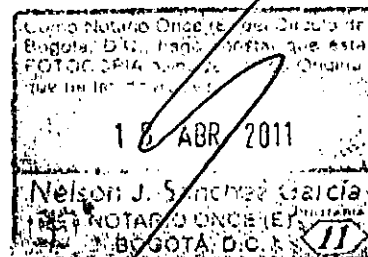
Licencia # 376 de 1993, expedida por el Ministerio de Justicia.

Dirección: Carrera 15 # 99-13 Of. 411, Bogotá, D.C.

Teléfonos: (571) 218 2308, (571) 623 2925.

E-mail: lsacaser1@yahoo.com

Traducción # 15-817



9

Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Minjusticia

RESUMEN

La presente invención se relaciona con una vacuna combinada que comprende una mezcla de antígenos para protección contra enfermedades tales como difteria, tétanos, tos ferina acelular e infecciones causadas por *Haemophilus influenzae* y virus de la polio. La presente invención también se relaciona con la inclusión de antígenos para protección contra infecciones causadas por virus de la hepatitis y otros patógenos, tal que la administración de la vacuna puede inmunizar simultáneamente al sujeto contra más de un patógeno. La invención en particular se relaciona con una vacuna combinada completamente líquida y estable que comprende los antígenos indicados más arriba y con los métodos para fabricar dicha vacuna.

NUEVAS COMPOSICIONES DE VACUNAS CON PERTUSSIS ACELULAR Y MÉTODO DE FABRICACIÓN DE LAS MISMAS

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con una vacuna combinada que comprende una mezcla de antígenos para protección contra enfermedades tales como difteria, tétanos, tos ferina (coqueluche) e infecciones causadas por *Haemophilus influenzae* y virus de la polio (poliovirus). La presente invención también se relaciona con la inclusión de antígenos para protección contra infecciones causadas por virus de la hepatitis y otros patógenos, tal que la administración de la vacuna puede inmunizar simultáneamente al sujeto contra más de un patógeno. La invención en particular se relaciona con una vacuna combinada completamente líquida y estable que comprende los antígenos indicados más arriba y con los métodos para fabricar dicha vacuna.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Antígenos de la vacuna

Antígenos de la Difteria y el Tétanos

La difteria y el tétanos son infecciones agudas causadas por *Corynebacterium diphtheriae* y *Clostridium tetani*, respectivamente. Las toxinas de estas bacterias son la causa principal de las respectivas enfermedades. Las vacunas que otorgan protección contra estas bacterias contienen estas toxinas que se han convertido en toxoides para hacerlas perder su infectividad. Las toxinas son tratadas usando productos químicos tales como formaldehído o glutaraldehído para hacer toxoides [toxoides diftérico (TD) y toxoides tetánico (TT)]. También se usa CRM 197, una toxina diftérica mutante, en algunas vacunas.

Antígenos de tos ferina

La tos ferina o coqueluche es causada por *Bordetella pertussis*. Ésta es una enfermedad debilitante y seria que incluso puede conducir a la muerte. Las vacunas iniciales contra la enfermedad estaban basadas en células completas que eran tratadas con productos químicos tales como formaldehído para matar las células e inactivar los materiales tóxicos. Aunque son altamente eficaces, tales vacunas, llamadas “vacunas de células completas” (wP) [N.d.T.: “whole cell (wP) vaccines”], están asociadas con efectos secundarios que incluyen fiebre y reacciones locales. La necesidad de contar con una vacuna más definida ha sido reconocida y los investigadores han cambiado el foco desde entonces hacia el desarrollo de una vacuna que comprenda un número menor de antígenos altamente purificados, llamada “vacuna de componentes”. Muchos factores asociados con virulencia, tal como la toxina pertúsica (TP), la hemaglutinina filamentosa (HAF), la pertactina (PRN o P69), las proteínas fimbriales (FIM 1, 2 y 3), la adenil ciclasa, los lipopolisacáridos y otras proteínas de membrana externa han sido sugeridas para ser incluidas en la “vacuna acelular”, que es menos definida en comparación con

la vacuna por componentes. La mayor parte del trabajo ha estado concentrada en una vacuna basada en TP, la cual es sólo parcialmente protectora. Una combinación de TP/HAF fue más eficaz, pero aún presentó una menor inmunogenicidad que la vacuna basada en células completas (wP). Se encontró que otro candidato potencial, la PRN o P69, hace que la vacuna contra la tos ferina sea más efectiva en combinación con TP y HAF. Algunas vacunas contra la tos ferina también tienen FIM como cuarto componente para impartir inmunogenicidad contra tos ferina.

Antígenos de poliomielitis

Hay disponibles dos tipos de vacuna:

- Una vacuna contra la polio oral (VPO) viva atenuada (debilitada) desarrollada por el Dr. Albert Sabin en 1961. La VPO, conteniendo las cepas Sabin, se administra oralmente.
- Una vacuna contra la polio inactivada (muerta) (VPI) desarrollada en 1955 por el Dr. Jonas Salk. La VPI, conteniendo las cepas Salk, se administra como una inyección.

Tanto la vacuna anti-polio atenuada (VPO) como la inactivada (VPI) han sido efectivas para controlar la enfermedad de la polio en todo el mundo. La vacuna contra la polio puede contener las cepas Salk o Sabin. Las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 son las cepas Salk que más se han usado en la vacuna contra la poliomielitis. Las cepas Sabin incluyen las cepas Sabin 1 y Sabin 2.

Antígenos contra *Haemophilus influenzae* (Hib)

El *Haemophilus influenzae* es un cocobacilo Gram-negativo que forma parte normal de la flora del tracto respiratorio superior. El *Haemophilus influenzae* de tipo b (Hib b) es una causa importante de infecciones de invasivas de transmisión sanguínea en niños jóvenes y una causa principal de meningitis en los primeros 2 años de vida. La inmunización contra *Haemophilus influenzae* comenzó en Canadá en 1987 con una vacuna de polisacáridos [PRP, del inglés polyribose ribitol phosphate, poli-ribosa ribitol fosfato]. La cápsula de poli-ribosil-ribitol fosfato (PRP) del Hib es un factor de virulencia importante para el organismo. El anticuerpo contra el PRP es el contribuyente primario para la actividad bactericida sérica, y los niveles altos del anticuerpo están asociados con un menor riesgo de enfermedad invasiva. El PRP es un antígeno independiente de células T y, por ende, está caracterizado por a) inducción de una respuesta de anticuerpos pobre en infantes y niños menores de 18 meses, b) una respuesta de anticuerpos variable y cuantitativamente menor que la que se ve con antígenos dependientes de células T, c) producción de una mayor proporción de inmunoglobulina M (IgM), y d) inhabilidad para inducir una respuesta de reforzamiento.

Las vacunas iniciales basadas sólo en el componente PRP probaron ser inefectivas en infantes. Se 12

han dirigido esfuerzos adicionales hacia la vacuna contra PRP conjugado, en donde el PRP se conjuga con proteínas llamadas proteínas portadoras, tales como la proteína de membrana externa de *Neisseria meningitidis*, el toxoide diftérico, el toxoide tetánico y CRM 197.

Antígenos contra hepatitis (Hep)

Existen varias cepas de virus de la hepatitis. La hepatitis B es una enfermedad causada por el virus de la hepatitis B (VHB) que infecta el hígado de los homínidos, incluyendo los humanos, y causa una inflamación llamada hepatitis. La infección varía en severidad desde una enfermedad suave que dura unas pocas semanas (aguda) hasta una enfermedad seria a largo plazo (crónica) que puede llevar a enfermedad hepática o cáncer hepático. La vacuna contra la enfermedad contiene una proteína de la cápside viral, el antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg). Las vacunas que protegen contra hepatitis B aprobadas por la FDA [N.d.T.: Food and Drug Administration, Administración de Alimentos y Drogas de los E.E.U.U.] son Recombivax HB® y Comvax®, de Merck, Engerix-B® y Pediarix®, de GlaxoSmithKline Biologicals.

Otros antígenos

Los otros antígenos que conciernen a la raza humana incluyen *Haemophilus influenzae* (serotipos a, c, d, e, f y cepas no encapsuladas), hepatitis (cepas A, C, D, E, F y G), meningitis A, B o C, influenza, neumococos, estreptococos, ántrax, dengue, malaria, sarampión, parotiditis (paperas), rubéola, BCG, encefalitis japonesa, rotavirus, viruela, fiebre amarilla, fiebre tifoidea, herpes zoster, varicela, y otros.

Vacunas combinadas

A pesar de largas décadas de investigación en el campo de las vacunas, las enfermedades infecciosas siguen siendo una amenaza para los humanos. Las vacunas combinadas que protegen contra varias enfermedades son muy deseables, dado que reducen el número de inyecciones administradas, reducen los costos de administración y producción y también mejoran el cumplimiento de los pacientes. Tales vacunas combinadas generalmente son mejor aceptadas.

Sin embargo, el fenómeno bien documentado de la competencia antigénica ha complicado e impedido el desarrollo de las vacunas multivalentes. Este fenómeno se refiere a la observación de que la administración de múltiples antígenos juntos a menudo da como resultado una respuesta disminuida hacia ciertos antígenos en relación con la respuesta inmune hacia estos antígenos cuando son administrados de forma separada.

La investigación temprana se ha enfocado en el desarrollo de una vacuna con múltiples valencias dirigidas contra diferentes enfermedades e infecciones. Una de tales vacunas combinadas bien

conocida es la que proporciona protección contra la difteria, el tétanos y la tos ferina acelular. El componente de tos ferina (pertussis) acelular (aP) normalmente comprende 2 o 3 de entre TP (toxina pertúsica) detoxificada, HAF (hemaglutinina filamentosa) y PRN o P69 (pertactina). En algunos casos, también pueden estar presentes otros antígenos contra tos ferina, tales como antígenos fimbriales (FIM 1, 2 o 3). Las vacunas combinadas DTaP aprobadas por la FDA son Infanrix® (GlaxoSmithKline Biologicals), Tripedia® y Daptacel® (Sanofi Pasteur).

Es deseable agregar otros antígenos a tal vacuna combinada que pueda entregar protección contra enfermedades causadas por virus de la hepatitis (Hep), *Haemophilus influenzae* (Hib) y poliovirus (VPI). También es deseable tener antígenos que proporcionen protección contra otras enfermedades agregados a las vacunas combinadas mencionadas más arriba.

Una vacuna recientemente aprobada por la FDA, Kinrix® de GlaxoSmithKline Biologicals, es una vacuna combinada que tiene antígenos VPI junto con DTaP (Infanrix®). Infanrix-Hib® es otra combinación proporcionada por GlaxoSmithKline Biologicals en donde los antígenos DTaP están presentes en una forma líquida y el antígeno Hib está liofilizado y se proporciona en una ampolla separada. Pediarix® e Infanrix penta® de GlaxoSmithKline Biologicals comprende una vacuna combinada en una dosis en ampolla única que comprende DTaP junto con los componentes Hep B y VPI. Pentacel®, de Sanofi Pasteur, es una combinación de cinco componentes de vacuna proporcionados como DTaP-VPI en forma líquida y el componente Hib en forma seca. Infanrix hexa® es una vacuna combinada de seis componentes de GlaxoSmithKline Biologicals, que protege contra las enfermedades de la difteria, el tétanos, la tos ferina, la polio, y las infecciones causadas por el virus Hep B y *Haemophilus influenzae* de tipo b. Incluso en esta combinación, todos los componentes, excepto el componente Hib, están presentes en forma líquida, estando el componente Hib presente en forma liofilizada. Así, ninguna de las vacunas combinadas mencionadas anteriormente es comercializada como una formulación completamente líquida ni comprende antígenos tales como Hib y Hep junto con los antígenos que entregan protección contra la difteria, el tétanos, la tos ferina y la polio en una sola ampolla.

La Patente de los Estados Unidos N° 6.756.040 declara que la mezcla simple de los componentes de la vacuna resulta en una disminución de los títulos de anticuerpos contra el componente de polisacárido, debido a interferencia antigénica. Este documento se relaciona con una formulación de vacuna para la prevención de las infecciones por *Haemophilus influenzae* (Hib) de tipo b, en donde se requiere que el conjugado de Hib b esté adsorbido sobre fosfato de aluminio de manera de inhibir la disminución de los anticuerpos anti-polisacárido. Además, el antígeno Hib b es liofilizado y mezclado con los otros antígenos presentes en forma líquida, no más de una hora antes de la administración. Así, este documento no divulga una vacuna combinada que esté

presente como una formulación completamente líquida y que comprenda los antígenos que otorgan protección contra difteria, tétanos, tos ferina e infecciones causadas por *Haemophilus influenzae*, hepatitis y virus de la polio.

La Patente de los Estados Unidos N° 6.013.264 de SmithKline Beecham Biologicals se relaciona con una vacuna multivalente que comprende HBsAg (antígeno Hep B) adsorbido sobre fosfato de aluminio. Este documento declara que cuando se usa HBsAg adsorbido sobre hidróxido de aluminio en una vacuna combinada, se produce una disminución significativa en la respuesta inmune hacia el componente HBsAg, lo que resulta en una seroconversión insuficiente después de la vacunación. Además, declara que existe la necesidad de evitar el uso de hidróxido de aluminio como adyuvante para la adsorción de HBsAg en una vacuna multivalente. Las especificaciones declaran que el componente Hib b puede agregarse extemporáneamente a la vacuna de la invención. Así, este documento no divulga una vacuna combinada que esté presente como una formulación completamente líquida y que comprenda los antígenos que otorgan protección contra difteria, tétanos, tos ferina e infecciones causadas por *Haemophilus influenzae*, hepatitis y virus de la polio. También la vacuna de acuerdo al documento 6.013.264 tiene el requerimiento específico de que el antígeno Hep B esté adsorbido sobre fosfato de aluminio y no sobre hidróxido de aluminio.

La Solicitud PCT WO2007054820 de Novartis Vaccines and Diagnostics se relaciona con una composición de vacunas en donde los antígenos D y T están específicamente adsorbidos sobre hidróxido de aluminio y los antígenos Hib b y Hep B están adsorbidos sobre fosfato de aluminio. Sin embargo, esta solicitud no divulga la preparación de una vacuna combinada estable completamente líquida en donde los antígenos D, T y aP están adsorbidos sobre fosfato de aluminio y el antígeno Hep está adsorbido sobre hidróxido de aluminio.

La Solicitud PCT WO1998000167A1 de Connaught Lab proporciona una composición inmunogénica multivalente para conferir protección en un huésped contra enfermedades causadas por infección por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, poliovirus y/o *Haemophilus influenzae*. El componente Hib b de la vacuna, de acuerdo a la especificación, es un componente liofilizado que tiene que ser reconstituido antes de ser mezclado con los otros componentes de la vacuna. Así, no existe una divulgación en la especificación relacionada con una vacuna combinada completamente líquida que comprenda todos los antígenos mencionados.

La liofilización, también llamada secado por congelamiento, es un proceso intensivo en costo que también causa mucho estrés en las proteínas. Cuando se liofiliza cualquier componente de la

vacuna, en el momento de la administración de la vacuna se requiere mezclar el liofilizado con otro líquido o con el componente líquido de la vacuna combinada. Esto representa una restricción suplementaria para el profesional y presenta un riesgo de ser llevado a cabo de mala manera. Se propone entonces tener una jeringa con múltiples compartimientos que contendría el componente liofilizado en un compartimiento y el componente líquido de la vacuna en el otro. Sin embargo, tal jeringa cuyo contenido puede ser mezclado en el momento de la administración de la vacuna no tiene un comportamiento satisfactorio en el nivel de reducir los costos de producción, así como en el nivel de las operaciones que tienen que ser llevadas a cabo por el profesional.

Por ende, es deseable evitar este paso de liofilización y proporcionar una vacuna combinada que tenga todos los componentes juntos en una forma completamente líquida. Esto facilitaría la administración de la vacuna, haciendo que el paciente cumpla y también reduciendo los costos de producción. Por lo tanto, es deseable tener el antígeno Hib ya agregado al componente líquido de la vacuna y así tener una vacuna multivalente completamente líquida.

La Solicitud PCT WO2004110480 de Glaxo SmithKline Biologicals se relaciona con una vacuna que comprende el polisacárido Hib b. La solicitud declara que la mezcla simple de los componentes de una vacuna combinada es complicada por el hecho de que no todos los antígenos pueden mezclarse efectivamente entre sí. Declara también que hay interferencia entre el hidróxido de aluminio de la vacuna DTP y el PRP. La invención en el documento WO2004110480 está dirigida a minimizar esta interferencia en tal vacuna combinada preparada extemporáneamente cuando el PRP es preadsorbido sobre fosfato de aluminio. La invención proporciona adicionalmente composiciones inmunogénicas, vacunas y vacunas combinadas que comprenden PRP que está protegido en algún grado de la interferencia inmune. Los inventores encontraron que lo anterior puede lograrse incorporando un excipiente polimérico aniónico en la vacuna que comprende PRP.

Sin embargo, el uso del polímero polianiónico en la formulación de la vacuna puede no ser deseable, debido a que podría aumentar el costo de formular la vacuna. Además, dado que una vacuna está finalmente concebida para ser usada en humanos, debería tener idealmente la menos cantidad posible de componentes. El uso de ingredientes adicionales significa la adición de sustancias a la formulación contra las que el cuerpo podría reaccionar y producir anticuerpos. Tal respuesta del cuerpo cuando se pone en contacto con tales componentes de la preparación inmunológica podría ser indeseable.

La Patente de los Estados Unidos N° 6.333.036 de Pasteur Merieux Serums, se relaciona con composiciones de vacunas que comprenden polisacárido capsular de *Haemophilus influenzae* de 16

tipo b o poli-ribosil-ribitol fosfato (PRP) de alto peso molecular acoplado con anatoxina tetánica, así como un adyuvante en base a aluminio. Los adyuvantes basados en aluminio usados en la invención tienen un punto de carga cero menor que aproximadamente 7,2. Sin embargo, la patente no divulga particularmente la preparación de una vacuna combinada que comprende antígenos que entregan protección contra difteria, tétanos y tos ferina y contra infecciones causadas por *Haemophilus influenzae* y virus de polio, en forma completamente líquida, en donde el antígeno Hib puede no estar completamente adsorbido sobre algún adyuvante. Esta patente tampoco divulga la preparación de una vacuna combinada estable completamente líquida que comprende antígenos que otorgan protección contra difteria, tétanos, tos ferina e infecciones causadas por *Haemophilus influenzae*, virus de la hepatitis y virus de la polio, en donde los antígenos de difteria, tétanos y tos ferina están adsorbidos sobre fosfato de aluminio y el antígeno de la hepatitis está adsorbido sobre hidróxido de aluminio.

La Patente Europea 1.208.750 de Sanofi Pasteur MSD se relaciona con una vacuna multivalente que otorga protección contra enfermedades causadas por *Bordetella pertussis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium tetani*, Poliovirus, virus de la hepatitis B y *Haemophilus influenzae*. Sin embargo, esta patente no divulga particularmente la preparación de una vacuna combinada que comprende antígenos que otorgan protección contra difteria, tétanos, tos ferina e infecciones causadas por *Haemophilus influenzae*, virus de la hepatitis y virus de la polio, en una forma completamente líquida, en donde los antígenos D, T y aP están adsorbidos sobre fosfato de aluminio y el antígeno Hep no está adsorbido sobre hidróxido de aluminio.

Hexavac® de Aventis Pasteur MSD es una vacuna completamente líquida aprobada para la protección contra las enfermedades causadas por dichos organismos. Sin embargo, el uso mundial de esta vacuna fue suspendido debido a problemas posteriores a la comercialización acerca de la variabilidad en el proceso de producción para el componente de vacuna contra la hepatitis B que puede conducir a una protección disminuida a largo plazo de la protección contra la hepatitis B.

Aunque se sigue llevando a cabo investigación para fabricar vacunas multivalentes que comprenden varios antígenos que otorgarían protección contra un número de enfermedades, ésta no ha abordado la necesidad de proporcionar una vacuna combinada estable que comprenda agentes que otorguen protección contra difteria, tétanos, tos ferina e infecciones causadas por *Haemophilus influenzae* y virus de la polio, en forma completamente líquida, en donde el antígeno Hib puede no estar sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante. Tampoco se divulga la fabricación de una vacuna combinada estable que comprende antígenos que otorgan protección contra difteria, tétanos, tos ferina e infecciones causadas por *Haemophilus influenzae*, 7

virus de la hepatitis y virus de la polio, en una forma completamente líquida, en donde los antígenos D, T y aP están adsorbidos sobre fosfato de aluminio y el antígeno Hep está adsorbido sobre hidróxido de aluminio. Existen reportes contradictorios con respecto a las respuestas de anticuerpos contra antígenos particulares en niños inmunizados por administración separada y coadministración de las vacunas combinadas y la vacuna PRP. Puede haber varias razones para tales resultados, incluyendo que las vacunas no sean idénticas en su contenido antigénico, en el método de toxoidización, en los adyuvantes o en el conservante utilizado.

De esta manera, las vacunas combinadas comercialmente disponibles en la actualidad pueden no contener formulaciones apropiadas de antígenos apropiados en formas inmunogénicas apropiadas para lograr los niveles deseados de eficacia e inmunogenicidad en la población humana susceptible, para un número de enfermedades en una única inyección. Existe la necesidad de una vacuna multicomponente que entregue protección contra varias infecciones y esté en forma líquida de manera de ser fácilmente administrable y confortable, de forma costo-efectiva. Sería deseable proporcionar una vacuna multivalente estable y eficaz contra enfermedades causadas por la infección por *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium tetani*, *Bordetella pertussis*, poliovirus, virus de la hepatitis, *Haemophilus influenzae* y otros. Para que dicha vacuna sea efectiva, debe cumplirse el criterio de seroprotección para cada uno de los antígenos de la vacuna. Por esto, existe la necesidad de superar los impedimentos y desafíos impuestos por la competencia e interferencia antigénica. La presente invención supera las limitaciones del arte previo y soluciona los problemas relacionados al proporcionar una formulación de vacuna multivalente que protege contra una pluralidad de enfermedades.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con una vacuna combinada que comprende una mezcla de antígenos para protección contra enfermedades tales como difteria, tétanos, tos ferina (coqueluche) e infecciones causadas por *Haemophilus influenzae* y virus de la polio (poliovirus). La presente invención también se relaciona con la inclusión de antígenos para protección contra infecciones causadas por virus de la hepatitis y otros patógenos, tal que la administración de la vacuna puede inmunizar simultáneamente al sujeto contra más de un patógeno. La invención en particular se relaciona con una vacuna combinada completamente líquida y estable que comprende los antígenos indicados más arriba y con los métodos para fabricar dicha vacuna.

La presente invención se relaciona adicionalmente con una vacuna pentavalente donde el antígeno Hib no está sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante. La invención también se relaciona con una vacuna hexavalente estable completamente líquida que comprende antígenos que otorgan protección contra una pluralidad de enfermedades, en donde los antígenos diftérico, 18

tetánico y pertúsico acelular están adsorbidos sobre fosfato de aluminio y el antígeno de la hepatitis está adsorbido sobre hidróxido de aluminio.

La presente invención está dirigida adicionalmente hacia una vacuna combinada que comprende una pluralidad de componentes de vacuna que son adecuados para la prevención, mejora y tratamiento de múltiples estados de enfermedad, que cumple con el criterio para la seroprotección para cada uno de dichos componentes de vacuna.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención está dirigida hacia una vacuna combinada estable y completamente líquida que comprende una pluralidad de componentes de vacuna que son adecuados para la prevención, mejora y tratamiento de múltiples estados de enfermedad, que cumple con el criterio para la seroprotección para cada uno de dichos componentes de vacuna.

Las ventajas de la presente invención incluyen una vacuna multivalente que puede conferir protección contra un amplio rango de enfermedades e infecciones de manera segura y eficaz. La vacuna de la invención proporciona inmunogenicidad contra varias enfermedades e infecciones sin ninguna interferencia de cualquiera de los antígenos que están presentes en la vacuna. Así, una única inyección conferiría inmunogenicidad contra varias enfermedades e infecciones, haciendo que los pacientes cumplan más con la vacunación. Dado que una sola inyección conferiría inmunidad contra un número de infecciones y enfermedades, se reduciría el costo de vacunación. La vacuna de la presente invención sería beneficiosa en el sentido de que reduciría el número de visitas al centro de vacunación y también el número de inyecciones que deben administrarse para cierto número de diferentes enfermedades e infecciones. Este aspecto de la invención la haría más útil y ventajosa especialmente con la población más joven que necesita ser vacunada para conferirle inmunidad contra un gran número de infecciones y enfermedades. Así, la presente invención proporciona una vacuna que es más aceptable.

Definiciones

El término “completamente líquido”, como se usa en este documento para describir la vacuna de la invención, se refiere al estado de la vacuna en donde todos los componentes de la vacuna están en estado líquido y no hay componentes de la vacuna que se proporcionen en forma liofilizada o en cualquier otra forma de manera que tengan que ser mezclados con los otros componentes de la vacuna antes de ser administrada a un sujeto.

El término “proteína portadora”, cuando se usa en este documento, describe el componente proteico con el cual se conjuga el polisacárido capsular (Hib) usado en la vacuna de manera de 19

convertir el polisacárido independiente de células T en un antígeno dependiente de células T.

El término “adyuvante”, cuando se usa en este documento, describe el componente no antigénico de la vacuna que mejora la respuesta inmune de los antígenos de la vacuna facilitando el contacto entre el antígeno y el sistema inmune influenciando el tipo y calidad de la respuesta inmune generada contra un antígeno. El adyuvante causa respuestas inmunes prolongadas contra los antígenos y también puede servir para disminuir la toxicidad de ciertos antígenos o proporcionar solubilidad a ciertos antígenos.

El término “estable” cuando se usa en este documento para describir la vacuna de la invención, significa que cada uno de los antígenos de la composición de la vacuna tiene una potencia/inmunogenicidad mayor que la fijada como límite normal de aceptación, después de la incubación de la vacuna a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ durante al menos 1 mes, preferiblemente 12 meses, y más preferiblemente 24 meses.

El término “sustancialmente” usado en este documento para describir la cantidad de adsorción o acoplamiento del Hib sobre cualquier adyuvante, en la expresión “el Hib no está sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante”, significa que la adsorción de Hib sobre cualquier adyuvante es menos de un 15%, y preferiblemente menos de un 10%. El antígeno Hib no se somete a ningún paso de manera de adsorberlo intencionalmente sobre cualquier adyuvante; la cantidad de adsorción que pueda ocurrir puede deberse al contacto entre el antígeno y el adyuvante y no es deliberada.

El término “de alrededor de” usado en este documento para describir la cantidad de cualquiera de los componentes presentes en la vacuna de la invención, significa una cantidad de dicho componente de la vacuna que está presente en cantidades de preferiblemente $\pm 20\%$, más preferiblemente $\pm 10\%$, y ante todo preferiblemente $\pm 5\%$ de la cantidad declarada para dicho componente particular.

El término “alrededor de” cuando se usa en este documento para describir el tiempo de agitación de los componentes de la mezcla durante el proceso de preparación de la vacuna de la invención, es preferiblemente $\pm 20\%$, más preferiblemente $\pm 10\%$ y ante todo preferiblemente $\pm 5\%$ del valor declarado.

El término “inmunológicamente activo” usado en este documento en referencia a la vacuna combinada de la invención significa que la vacuna, cuando se administra al sujeto, es capaz de provocar la producción de anticuerpos contra cada uno de los antígenos de dicha combinación, de 20

manera de proteger al sujeto vacunado contra las respectivas enfermedades o infecciones.

El término "acoplamiento o adsorción" usado en este documento en referencia a los antígenos de la vacuna combinada, se refieren a cualquier forma de unión física entre el antígeno y el adyuvante.

La vacuna de la invención

La presente invención proporciona una composición estable de vacuna combinada en la que todos los componentes de la vacuna están presentes juntos en forma líquida en una única ampolla.

Un aspecto de la presente invención proporciona una vacuna pentavalente estable completamente líquida que comprende antígenos diftérico (D), tetánico (T), pertúsico acelular (aP), *Haemophilus influenzae* (Hib) y poliovirus (VPI), en donde Hib no está sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante.

Otro aspecto de la presente invención se relaciona con una vacuna hexavalente estable completamente líquida que comprende antígenos diftérico (D), tetánico (T), pertúsico acelular (aP), de *Haemophilus influenzae* (Hib), de hepatitis (Hep) y de poliovirus (VPI), en donde los antígenos D, T y aP están adsorbidos sobre fosfato de aluminio y el antígeno Hep está adsorbido sobre hidróxido de aluminio.

La invención también considera que los antígenos diftérico (D), tetánico (T) y pertúsico acelular (aP) estén adsorbidos sólo sobre fosfato de aluminio y no sobre hidróxido de aluminio.

De acuerdo a un aspecto de la invención, el antígeno Hib es conjugado con una proteína portadora seleccionada a partir de un grupo que comprende el toxoide tetánico (TT), el toxoide diftérico (TD), CRM 197 y la proteína de membrana externa de *Neisseria meningitidis*, o cualquier equivalente de los mismos, o cualquier otro portador conocido.

De acuerdo a otro aspecto de la invención, el antígeno Hib no está sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante.

De acuerdo a otro aspecto de la invención, el antígeno Hib en la vacuna de la invención es derivado del polisacárido capsular de la cepa Hib b.

Un aspecto de la invención considera que el antígeno Hep esté adsorbido sobre hidróxido de aluminio y no sobre fosfato de aluminio.

Un aspecto adicional de la invención se relaciona con que el antígeno Hep sea derivado del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg); es decir, el antígeno de superficie de la cepa Hep B.

21

De acuerdo a un aspecto de la invención, las cepas de VPI son una o más cepas Salk, que pueden ser seleccionadas a partir del grupo consistente en las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3, o una o más cepas Sabin seleccionadas a partir del grupo consistente en las cepas Sabin de tipo 1 y 2.

Otro aspecto de la invención considera que la vacuna de la invención comprenda 2-fenoxietanol como conservante en la formulación.

Además, otro aspecto de la invención se relaciona con el proceso de fabricación de las vacunas combinadas de la invención.

Otro aspecto adicional de la invención se relaciona con la composición de las vacunas combinadas de la invención de manera que cada uno de los antígenos esté presente en una cantidad en la vacuna tal que provoque una respuesta inmune contra dicho antígeno.

Antígenos de la vacuna de la invención

La difteria es causada por *Corynebacterium diphtheriae*, una bacteria aeróbica Gram-positiva no esporulante. Este organismo expresa una exotoxina ribosilante de ADP codificada por un profago ("toxina diftérica"), que puede ser tratada (por ejemplo, usando formaldehído) para producir un toxoide. Este toxoide no sigue siendo tóxico, pero aún es antigénico y es capaz de estimular la producción de anticuerpos específicos anti-toxina después de ser inyectado. La preparación de antígeno diftérico usada en la vacuna de la invención preferiblemente comprende toxoide diftérico.

El tétanos es causado por *Clostridium tetani*, un bacilo Gram-positivo esporulante. Este organismo expresa una endopeptidasa ("toxina tetánica") que puede ser tratada para producir un toxoide que no sigue siendo tóxico. Sin embargo, aún sigue siendo antigénico y es capaz de estimular la producción de anticuerpos específicos anti-toxina después de ser inyectado. La preparación de antígeno tetánico usada en la vacuna de la invención preferiblemente comprende toxoide tetánico.

La tos ferina o coqueluche es causada por *Bordetella pertussis*. Los antígenos pertúsicos acelulares (aP) pueden ser obtenidos a partir de cualquiera de las cepas conocidas de *Bordetella pertussis*. Para los propósitos de la invención, los antígenos aP pueden obtenerse preferiblemente de la cepa *B. pertussis* Tohama. Puede usarse cualquier medio apropiado para el aislamiento, cultivo, proliferación y fermentación del cultivo. Para los propósitos de la invención, puede usarse preferiblemente el medio Stainer-Scholte modificado. Los antígenos pertúsicos acelulares (aP) usados en la vacuna de la presente invención comprenden al menos uno o más antígenos seleccionados a partir del grupo formado por toxoide pertúsico (TP), hemaglutinina filamentososa (HAF), pertactina (P69 o PRN) y FIM (antígenos fimbriales 1, 2 o 3). Sin embargo, de acuerdo a

22

una implementación preferida de la invención, la preparación de antígeno aP usada en la vacuna de la invención comprende antígenos TP, HAF y PRN (P69).

El *Haemophilus influenzae* es un cocobacilo Gram-negativo que causa infecciones invasivas transmisibles por vía sanguínea y meningitis. De acuerdo a una implementación de la invención, el antígeno Hib, que se deriva del polisacárido capsular, puede ser conjugado o acoplado con proteínas portadoras. Las proteínas portadoras usadas para la conjugación del antígeno Hib pueden ser seleccionadas a partir del grupo que comprende toxoide tetánico (TT), toxoide diftérico (TD), CRM 197 y proteína de membrana externa de *Neisseria meningitidis* o cualquier equivalente de los mismos. Otras proteínas portadoras apropiadas incluyen péptidos sintéticos, proteínas de shock térmico, proteínas de tos ferina, citocinas, linfocinas, hormonas, factores de crecimiento, proteínas artificiales que comprenden epítomos múltiples de células T CD4+ humanas de varios antígenos derivados de patógenos, tales como N19, proteína D de *H. influenzae*, proteína de superficie neumocócica PspA, neumolisina, proteínas de captación de hierro, toxina A o B de *C. difficile* y proteínas de *S. agalactiae*, pero no están limitadas a las mismas. La preparación de antígeno Hib usada en la vacuna de la invención comprende antígeno Hib preferiblemente conjugado o acoplado con toxoide tetánico.

El conjugado de polisacárido puede prepararse mediante cualquier técnica de acoplamiento conocida. Por ejemplo, el polisacárido puede acoplarse a través de un enlace tioéter. Este método de conjugación se basa en la activación del polisacárido con tetrafluoroborato de 1-ciano-4-dimetilamino-piridinio (CDAP) para formar un éster de cianato. Así, el polisacárido activado puede ser acoplado directamente o a través de un grupo espaciador a un grupo amino de la proteína portadora. Los conjugados también pueden prepararse mediante métodos de aminación reductiva directa. Otro método involucra el acoplamiento directo de un polisacárido activado con bromuro de cianógeno (CNBr) y derivatizado con hidrazida de ácido adípico (ADH), con la proteína portadora mediante condensación con carbodiimida. Cualquier otro método conocido puede ser utilizado para preparar el polisacárido conjugado usado en la vacuna de la invención.

De acuerdo a una implementación de la invención, el antígeno Hib no está sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante; preferiblemente, el grado de adsorción del antígeno Hib sobre un adyuvante no es mayor a un 15%; más preferiblemente, el grado de adsorción del antígeno Hib sobre un adyuvante no es mayor a un 10%.

De acuerdo a otra implementación de la invención, el antígeno Hib no se somete deliberada o intencionalmente a adsorción sobre ningún adyuvante.

De acuerdo a otra implementación preferida de la invención, la preparación del antígeno Hib comprende un antígeno derivado del polisacárido capsular de la cepa Hib b.

La hepatitis es causada por varias cepas de hepatitis, tales como la A, B, C, D, E, F o G. El virus de la hepatitis B (VHB) es uno de los agentes más importantes que causan hepatitis viral. El virión VHB consiste en un núcleo interno rodeado por una cubierta externa de proteínas o cápside. El componente principal de la cápside es una proteína conocida como antígeno de superficie de VHB o, más comúnmente, "HBsAg" [N.d.T., del inglés, Hepatitis B surface antigen]. Cuando se administra el antígeno en una vacuna, éste estimula la producción de anticuerpos anti-HBsAg, los cuales protegen contra la infección por VHB. De acuerdo a un aspecto preferido de la invención, la preparación de antígeno de la hepatitis (Hep) usado en la vacuna de la invención comprende antígenos Hep derivados del antígeno de superficie de la cepa de la hepatitis B (HBsAg).

Para la fabricación de vacunas, el HBsAg puede fabricarse ya sea por purificación del antígeno en forma particulada a partir del plasma de portadores crónicos de hepatitis B, dado que se sintetiza grandes cantidades de HBsAg en el hígado que se liberan en el torrente sanguíneo durante una infección por VHB, o expresando la proteína mediante métodos de ADN recombinante. El HBsAg para ser usado en la vacuna de la invención puede ser preparado de cualquiera de las dos maneras.

La poliomiелitis es causada por los virus de la polio. La vacuna de la invención puede comprender cepas Sabin (Sabin 1 y/o Sabin 2) o cepas Salk de poliovirus. De acuerdo a una implementación preferida de la invención, la vacuna de la invención comprende cepas Salk. Existen 3 tipos de cepas Salk que pueden causar poliomiелitis. Los tres tipos son similares y causan síntomas idénticos, pero son antigénicamente muy diferentes y la infección por un tipo no protege contra la infección por otros. Los poliovirus Salk incluyen 3 cepas – poliovirus de Tipo 1 (por ejemplo, la cepa Mahoney), poliovirus de Tipo 2 (por ejemplo, la cepa MEF-1) y poliovirus de Tipo 3 (por ejemplo, la cepa Saukett). De acuerdo a una implementación preferida de la invención, la vacuna de la invención puede comprender una o más de dichas cepas Salk.

Los poliovirus pueden hacerse crecer en cultivo celular. La línea celular Vero, que es una línea celular continua derivada de riñón de mono, puede usarse para hacer crecer los poliovirus. Después del crecimiento, los viriones pueden ser purificados usando técnicas ya conocidas. Los virus pueden ser inactivados. Las cantidades de poliovirus se expresan típicamente en la unidad DU (la "unidad de antígeno-D"). La preparación de antígeno VPI usada en la manufactura de la vacuna de la invención se prepara preferiblemente de manera de comprender una o más cepas que se usan en la manufactura de la vacuna. Esta preparación en masa se usa a continuación para formular la vacuna de la invención.

Componentes no antigénicos de la vacuna

Junto con los componentes antigénicos, la vacuna puede comprender un número de componentes no antigénicos que son excipientes farmacéuticamente aceptables. Éstos incluyen modificadores de pH, amortiguadores, adyuvantes, conservantes, portadores y agentes modificadores de la tonicidad, pero no están restringidos a ellos.

Adyuvantes

Los antígenos de la formulación final pueden o no estar adsorbidos sobre un adyuvante. Un adyuvante funciona estimulando la producción de inmunidad contra los ingredientes de la vacuna, haciendo la vacuna más efectiva.

Los adyuvantes pueden servir para:

- Poner el antígeno en contacto con el sistema inmune e influenciar el tipo de inmunidad producida, así como la calidad de la respuesta inmune (magnitud o duración);
- Disminuir la toxicidad de ciertos antígenos; y
- Proporcionar solubilidad a algunos componentes de la vacuna.

Los estudios han mostrado que muchas vacunas que contienen aluminio provocan respuestas de anticuerpos más altas y más prolongadas que las vacunas comparables sin el adyuvante. El beneficio de los adyuvantes se ha observado usualmente durante la serie inicial de inmunizaciones, en lugar de en las dosis de reforzamiento.

Los adyuvantes basados en aluminio son los adyuvantes más comúnmente usados. Estos adyuvantes también han sido aprobados por la FDA para su uso en vacunas. Existen tres tipos generales de adyuvantes que contienen aluminio:

- Hidróxido de aluminio
- Fosfato de aluminio
- Sulfato de potasio y aluminio (frecuentemente llamado “alumbre”)

Una implementación de la invención se relaciona con que ciertos antígenos de la vacuna estén adsorbidos sobre fosfato de aluminio y ciertos antígenos de la vacuna estén adsorbidos sobre hidróxido de aluminio. Algunos antígenos pueden estar adsorbidos sólo sobre fosfato de aluminio y no sobre hidróxido de aluminio, y viceversa. Ciertos antígenos de la invención pueden no estar adsorbidos absoluta o sustancialmente sobre ningún adyuvante. La preferencia del adyuvante para la adsorción de dichos antígenos entrega a la vacuna de la invención sus características. La preferencia de adsorción se describe con mayor detalle en la sección sobre el “Proceso para fabricar la vacuna de la invención”, más adelante.

25

Conservantes

Las vacunas son propensas a contaminarse con bacterias. Así, para evitar la contaminación con microorganismos dañinos potencialmente peligrosa para la vida que puede ser introducida en una vacuna y ser incorporada durante el evento de contaminación accidental, puede incluirse un conservante en la composición de la vacuna cuando se la formula. Los conservantes que se han usado incluyen cloruro de bencetonio (Phemerol), thiomersal, fenol y 2-fenoxietanol (2-POE).

El thiomersal o timerosal es un compuesto orgánico que contiene mercurio (un organomercúrico) que se ha usado en muchas vacunas como conservante. Ha habido reportes relacionados con ciertas reacciones alérgicas del thiomersal, primariamente en la forma de reacciones de hipersensibilidad local de tipo retardado, incluyendo enrojecimiento e hinchazón en el sitio de la inyección. También existen reportes contradictorios que vinculan el autismo con el mercurio.

El 2-fenoxietanol (2-POE) también se conoce como “1-hidroxi-2-fenoxietano”, “2-hidroxietil fenil éter”, “etilenglicol fenil éter”, etc. El perfil de seguridad del 2-fenoxietanol es mejor que el de conservantes mercuriales (por ejemplo, thiomersal). Por ende, existe la necesidad de evitar el uso de thiomersal y usar 2-fenoxietanol en las vacunas.

Así, otra implementación preferida de la invención se relaciona con el uso de 2-fenoxietanol como conservante en la composición de la vacuna. De acuerdo a otra implementación preferida de la invención, la concentración de 2-fenoxietanol es de 5 mg/ml de vacuna.

Agentes modificadores de la tonicidad

Para controlar la tonicidad de la composición de vacuna, se prefiere incluir un agente modificador de tonicidad en la formulación de la vacuna. Estos agentes incluyen sales (ejemplos: NaCl, MgCl₂, KCl, CaCl₂), azúcares (ejemplos: dextrosa, manitol, lactosa), aminoácidos (ejemplos: arginina, glicina, histidina) y polioles (ejemplos: sacarosa, glicerol, sorbitol), pero no están limitados a los mismos. En una implementación más preferida, se usa una sal fisiológica, tal como una sal de sodio, en la formulación de la vacuna. Ante todo, es preferible incluir cloruro de sodio (NaCl) en la composición de la vacuna de la invención.

Modificadores de pH y/o amortiguadores

Puede usarse varios modificadores de pH conocidos por personas versadas en el arte para ajustar el pH de la composición de vacuna como se desee, tal como hidróxido de sodio o ácido clorhídrico. Puede usarse varios amortiguadores, tales como fosfato de sodio, fosfato de potasio y amortiguadores de citrato, en la formulación de la vacuna.

Composición de la vacuna de la invención

La composición de la vacuna de la invención es tal que la vacuna de la invención se vuelve inmunogénica en virtud de las cantidades de cada uno de los antígenos contenidos en la vacuna. Cada uno de los antígenos en la vacuna de la invención se encuentra preferiblemente en cantidades que, cuando la vacuna combinada se administra a un sujeto, provoca una respuesta inmune en el sujeto contra dichos antígenos de la composición.

De acuerdo a una implementación de la invención, una vacuna pentavalente completamente líquida comprende D, T, aP (TP, HAF, PRN), Hib b y VPI (Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2, y Saukett de tipo 3), en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 25 Lf, TP está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 µg, HAF está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 µg y PRN está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 15 µg por cada 0,5 ml, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 20 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 1 – 50 DU, 1 – 15 DU y 1 – 50 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml, para formar una vacuna combinada estable e inmunogénica.

De acuerdo a una implementación preferida de la invención, la vacuna pentavalente completamente líquida comprende D, T, aP (TP, HAF, PRN), Hib b y VPI, en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 25 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 10 Lf, TP está presente en una cantidad de alrededor de 25 µg, HAF está presente en una cantidad de alrededor de 25 µg y PRN está presente en una cantidad de alrededor de 8 µg por cada 0,5 ml, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 40 DU, 8 DU y 32 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml, de manera que dicha vacuna sea una composición estable e inmunogénica cuando es administrada a un sujeto.

Otra implementación de la invención proporciona una vacuna hexavalente completamente líquida que comprende D, T, aP (TP, HAF, PRN), Hib b, Hep B y VPI (Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2, y Saukett de tipo 3), en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 25 Lf, TP está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 µg, HAF está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 µg y PRN está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 15 µg por cada 0,5 ml, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 20 µg por cada 0,5 ml, Hep B está presente en una cantidad entre alrededor de 1 – 25 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 1 – 50 DU, 1 – 15 DU y 1 – 50 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml, de manera que la vacuna combinada sea estable e inmunogénica cuando es administrada a un sujeto.

27

De acuerdo a otra implementación preferida de la invención, se proporciona una vacuna hexavalente completamente líquida que comprende D, T, aP (TP, HAF, PRN), Hib b, Hep B y VPI, en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 25 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 10 Lf, TP está presente en una cantidad de alrededor de 25 µg, HAF está presente en una cantidad de alrededor de 25 µg y PRN está presente en una cantidad de alrededor de 8 µg por cada 0,5 ml, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg y Hep B está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 40 DU, 8 DU y 32 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml. Tal vacuna debería ser una vacuna estable capaz de provocar una respuesta inmune protectora contra todos los antígenos de la composición, cuando es administrada a un sujeto.

La invención se relaciona adicionalmente con un método para inducir una respuesta inmunológica contra cualquiera de los antígenos seleccionados entre D, T, P, Hib, Hep o VPI, que comprende administrar una cantidad inmunológicamente activa de la vacuna de la invención.

De acuerdo a otro aspecto de la invención, el contenido de aluminio (Al^{3+}) en la vacuna de la invención no puede ser más de, preferiblemente, 2 mg por cada 0,5 ml, más preferiblemente 1 mg por cada 0,5 ml y ante todo preferiblemente 0,8 mg por cada 0,5 ml.

De acuerdo a otro aspecto de la invención, la cantidad preferida de 2-fenoxietanol en la vacuna combinada de la invención puede ser de 5 mg/ml.

Proceso para fabricar la vacuna de la invención

Uno de los aspectos de la invención se relaciona con el proceso para fabricar la vacuna de la invención. La inmunogenicidad, la estabilidad y el mantenimiento de la forma correcta de los antígenos en la composición inmunogénica pueden depender de la forma en que se formula la composición. Esto puede incluir la secuencia de adición de los antígenos, el uso de los adyuvantes específicos para ciertos antígenos, el uso de varios parámetros, incluyendo agitación, temperatura y pH.

Una de las implementaciones de la invención se relaciona con el proceso de fabricación de la vacuna pentavalente estable completamente líquida que comprende antígenos diftérico (D), tetánico (T), pertúsico acelular (aP), de *Haemophilus influenzae* (Hib) y VPI, que comprende los pasos de:

- a) preparar un componente I que comprende una mezcla de i) antígeno diftérico (D), ii) antígeno tetánico (T) y iii) antígeno pertúsico acelular (aP),

b) agregar el Componente I hacia una preparación de antígeno de *Haemophilus influenzae* (Hib) para obtener una mezcla,

c) agregar la mezcla anterior a los antígenos de poliovirus (VPI),

con la condición de que el Hib no está sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante.

De acuerdo a una implementación preferida de la invención, los antígenos D, T y aP están adsorbidos sobre fosfato de aluminio.

Una de las implementaciones de la invención se relaciona con la preparación del componente I, que comprende las siguientes etapas:

a) transferir preparaciones de antígenos diftérico y tetánico junto con el gel de fosfato de aluminio, la solución salina y el 2-fenoxietanol (2-POE) hacia un recipiente,

b) transferir preparaciones de antígenos TP, HAF y PRN con agitación hacia el recipiente anterior para obtener una mezcla,

c) agregar solución salina y 2-POE a dicho recipiente, chequear el pH de la mezcla anterior y ajustarlo en un rango entre 6,0-7,0.

El proceso se relaciona además con la mezcla de los antígenos Hib y VPI con el componente I de la vacuna de la invención, que comprende el paso de transferir la mezcla anterior que comprende los antígenos D, T y aP hacia una preparación de antígeno Hib para obtener otra mezcla y luego mezclar esta mezcla con la preparación de antígeno VPI, chequear el pH y ajustarlo en un rango entre 6,0-7,0.

La invención también se relaciona con otra implementación preferida de la misma que proporciona un proceso de fabricación de la vacuna hexavalente estable completamente líquida que comprende antígenos diftérico (D), tetánico (T), pertúsico acelular (aP), de *Haemophilus influenzae* (Hib), de hepatitis y VPI, que comprende los pasos de:

a) preparar un componente I que comprende una mezcla de i) antígeno diftérico (D), ii) antígeno tetánico (T) y iii) antígeno pertúsico acelular (aP),

b) preparar un componente II que comprende antígeno de la hepatitis (Hep),

c) combinar los componentes I y II para formar una mezcla,

d) agregar la mezcla anterior a los antígenos Hib y VPI,

con la condición de que los antígenos D, T y aP han sido adsorbidos sobre fosfato de aluminio y el antígeno Hep está adsorbido sobre hidróxido de aluminio.

29

De acuerdo a otro aspecto preferido de la invención la preparación del componente I comprende los siguientes pasos:

- a) transferir preparaciones de antígenos diftérico y tetánico junto con el gel de fosfato de aluminio, la solución salina y el 2-fenoxietanol (2-POE) hacia un recipiente,
- b) transferir preparaciones de antígenos TP, HAF y PRN con agitación hacia el recipiente anterior,
- c) agregar solución salina y 2-POE a dicho recipiente, chequear el pH y ajustarlo en un rango entre 6,0-7,0.

El proceso comprende adicionalmente la preparación del componente II de la vacuna de la invención, que comprende los siguientes pasos:

- a) transferir un gel de hidróxido de aluminio hacia un recipiente,
- b) transferir una preparación de antígeno Hep al recipiente,
- c) agregar preparación de solución salina y 2-POE a dicho recipiente con agitación, chequear el pH y ajustarlo en un rango entre 6,0-7,0.

El proceso se relaciona además con la mezcla del componente I y el componente II de la vacuna de la invención, que comprende el paso de transferir el contenido del componente II hacia el componente I para obtener una mezcla.

El proceso involucra además la mezcla de los antígenos Hib y VPI con la mezcla obtenida anteriormente, que comprende el paso de mezclar dicha mezcla anterior con una preparación de antígeno Hib para obtener otra mezcla y mezclar adicionalmente esta mezcla con la preparación de antígeno VPI, chequear el pH y ajustarlo en un rango entre 6,0-7,0.

De acuerdo a una implementación preferida de la invención, la agitación mencionada en cualquiera de los pasos anteriores se realiza a 150 rpm a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por entre alrededor de 30 minutos a 2 horas.

Los siguientes ejemplos se usan para ilustrar adicionalmente la presente invención y las ventajas de la misma. Los siguientes ejemplos específicos se entregan bajo el entendimiento de que están concebidos a modo ilustrativo sin servir de limitación del alcance de la presente invención.

EJEMPLO I

Este ejemplo entrega la composición y el proceso de fabricación de la vacuna pentavalente como un aspecto de la invención.

30

A] Composición de la vacuna pentavalente según la invención, como sigue:

Cada 0,5 ml de vacuna comprende lo siguiente:

Tabla 1:

COMPONENTES	CANTIDAD
Toxoide diftérico ¹ (TD)	25 Lf
Toxoide tetánico ¹ (TT)	10 Lf
Antígeno pertúsico acelular ¹ (aP)	
Toxoide pertúsico (TP)	25 µg
Hemaglutinina filamentosa (HAF)	25 µg
Pertactina (PRN)	8 µg
Antígeno de <i>Haemophilus influenzae</i> (Hib) b (polisacárido capsular)	10 µg
Poliovirus inactivado (VPI)	
Polio tipo 1	40 unidades D (DU)
Polio tipo 2	8 unidades D (DU)
Polio tipo 3	32 unidades D (DU)
Otros ingredientes:	
Contenido de aluminio	0,60 mg de Al ³⁺ (como fosfato de aluminio)
2-fenoxietanol	2,5 mg
Solución salina	c.s.

¹ sobre fosfato de aluminio

c.s.: cantidad suficiente

B] Proceso para fabricar la vacuna pentavalente según la invención, como sigue:

1. Procedimiento para la formulación del Componente I

Las preparaciones de antígenos diftérico y tetánico, junto con el gel de fosfato de aluminio, la solución salina y el 2-POE, fueron transferidas hacia un recipiente, seguidas de las preparaciones

31

de antígenos PT, HAF y PRN. Se mezcló solución salina y 2-fenoxietanol (2-POE) adicionales junto a la mezcla de dicho recipiente anterior; se chequeó el pH y se lo ajustó para dejarlo en un rango de pH entre 6,0-7,0.

2. Adición de Hib b y VPI en masa

El contenido del componente I se mezcló con la preparación del antígeno Hib b para obtener otra mezcla, la que luego se mezcló con la preparación de antígeno VPI con agitación, para obtener una vacuna pentavalente. Se chequeó el pH y se lo ajustó para dejarlo en un rango entre 6,0-7,0.

EJEMPLO II

Este ejemplo entrega la composición y el proceso de fabricación de la vacuna hexavalente como un aspecto de la invención.

A) Composición de vacuna hexavalente según la invención, como sigue:

Cada 0,5 ml de vacuna comprende lo siguiente:

Tabla 2:

COMPONENTES	CANTIDAD
Toxoide diftérico ¹ (TD)	25 Lf
Toxoide tetánico ¹ (TT)	10 Lf
Antígeno pertúsico acelular ¹ (aP)	
Toxoide pertúsico (TP)	25 µg
Hemaglutinina filamentosa (HAF)	25 µg
Pertactina (PRN)	8 µg
Antígeno de <i>Haemophilus influenzae</i> (Hib) b (polisacárido capsular)	10 µg
Antígeno de superficie de hepatitis (Hep) B (HBsAg) ²	10 µg
Poliovirus inactivado (VPI)	
Polio tipo 1	40 unidades D (DU)
Polio tipo 2	8 unidades D (DU)
Polio tipo 3	32 unidades D (DU)

32

Otros ingredientes:	
Contenido de aluminio	0,60 mg de Al^{3+} (como fosfato de aluminio)
	0,20 mg de Al^{3+} (como hidróxido de aluminio)
2-fenoxietanol	2,5 mg
Solución salina	c.s.

¹ sobre fosfato de aluminio;

² sobre hidróxido de aluminio;

c.s.: cantidad suficiente.

B] Proceso para fabricar una vacuna hexavalente según la invención, como sigue:

1. Procedimiento para la formulación del Componente I

Las preparaciones de antígenos diftérico y tetánico, junto con el gel de fosfato de aluminio, la solución salina y el 2-fenoxietanol (2-POE), fueron transferidas hacia un recipiente, seguidas de las preparaciones de antígenos PT, HAF y PRN. Se mezcló solución salina y 2-POE adicionales junto a la mezcla de dicho recipiente anterior; se chequeó el pH y se lo ajustó para dejarlo en un rango de pH entre 6,0-7,0.

2. Procedimiento para la formulación del Componente II

Se colocó gel de hidróxido de aluminio en un recipiente. Se mezcló una preparación de antígeno Hep B para obtener una mezcla. Se agregó una preparación adicional de solución salina y 2-POE con dicha mezcla que comprende antígeno Hep B, se chequeó el pH y se lo ajustó para dejarlo en un rango entre pH 6,0-7,0.

3. Mezcla del Componente I con el Componente II

Este paso se llevó a cabo transfiriendo el contenido del componente II hacia el componente I para obtener una mezcla.

4. Adición de Hib b y VPI en masa

La mezcla anterior que comprende los componentes I y II se mezcló con la preparación del antígeno Hib b para obtener otra mezcla, la que luego se mezcló con la preparación de antígeno VPI con agitación, para obtener una vacuna hexavalente. Se chequeó el pH y se

33

lo ajustó para dejarlo en un rango entre 6,0-7,0.

EJEMPLO III

Este ejemplo entrega un informe de la prueba de potencia in vivo llevada a cabo para los antígenos diftérico, tetánico, pertúsico de células completas, *Haemophilus influenzae* (Hib) de tipo b, hepatitis B y poliovirus inactivado, y los datos de estabilidad de la potencia para los mismos.

A) Prueba de potencia in vivo llevada a cabo para los antígenos diftérico, tetánico, pertúsico de células completas, *Haemophilus influenzae* (Hib) de tipo b, hepatitis B y poliovirus inactivado

1. Toxoide Diftérico

Especie animal requerida : Conejillo de Indias

Número de animales requeridos para 1 lote : 116 (48 para la prueba, 48 de referencia y 20 para la DL₅₀)

Ruta de administración de la vacuna : Subcutánea

Volumen de inyección : 1,0 ml

Nº de días de guarda de los animales : 28

La potencia del toxoide diftérico fue determinada en conejillos de Indias mediante el método de desafío letal. En este método, se preparó tres diluciones para cada prueba y se preparó la vacuna de referencia de manera que la dilución media contenía la dosis DE₅₀ que salva al menos a un 50% de los animales de prueba. Se inoculó dieciséis conejillos de Indias para cada dilución de la vacuna de prueba y de la vacuna de referencia y después de 28 días se desafió a los animales de prueba con toxina diftérica conteniendo 100 DL₅₀. Un grupo de veinte conejillos de Indias se dejaron sin inmunizar para la titulación de la toxina diftérica y este grupo de conejillos de Indias fue inoculado con diferentes diluciones de toxina diftérica, 5 conejillos de Indias para cada dilución. La prueba se completó en 33 días. Se realizó cálculos adicionales usando PROBIT. La muestra pasa la prueba de potencia diftérica si contiene ≥ 30 UI/Dosis Humana Única.

- La vacuna de prueba debería ser lineal y paralela con la vacuna de referencia.
- El límite de confianza de la potencia estimada debería estar entre 50 y 200%.
- La potencia estimada no debería ser menor que 30 U.I. por dosis humana única.

34

- El límite del intervalo de confianza del 95% del estimado de potencia debería estar entre 50-200%, a menos que el límite inferior del intervalo de confianza del 95% de la potencia estimada deba ser mayor que 30 U.I. por dosis.

2. Toxoide Tetánico

Especie animal requerida : Ratón suizo albino

Número de animales requeridos para 1 lote : 116 (48 para la prueba, 48 de referencia y 50 para la DL₅₀)

Ruta de administración de la vacuna : Subcutánea

Volumen de inyección : 0,5 ml

Nº de días de guarda de los animales : 28

La prueba de potencia del toxoide tetánico fue determinada en ratones suizos mediante el método de desafío letal. En la prueba, se preparó tres diluciones para cada prueba y se preparó la vacuna de referencia de manera que la dilución media contenía la dosis DE₅₀ que salva al menos a un 50% de los animales de prueba. Se inoculó un grupo de dieciséis ratones suizos para cada dilución de la vacuna de prueba así como para la vacuna de referencia y después de 28 días de guarda se desafió a los animales de prueba con toxina tetánica conteniendo 100 DL₅₀. Un grupo de veinte ratones suizos se mantuvo sin inmunizar para la titulación de la toxina tetánica y se inoculó 5 ratones por cada una de las 4 diluciones de la titulación de DL₅₀. La prueba se completó en 33 días. Se llevó a cabo cálculos adicionales usando PROBIT. La muestra de potencia pasa la prueba de potencia tetánica si contiene ≥ 60 UI/Dosis Humana Única.

- La vacuna de prueba debería ser lineal y paralela con la vacuna de referencia.
- El límite de confianza de la potencia estimada debería estar entre 50 y 200%.
- La potencia estimada no debería ser menor que 60 U.I. por dosis humana única.

El límite del intervalo de confianza del 95% del estimado de potencia debería estar entre 50-200%, a menos que el límite inferior del intervalo de confianza del 95% de la potencia estimada debiera ser mayor que 60 U.I. por dosis.

3. Antígeno pertúsico acelular (aP)

Especie animal requerida : Ratón suizo

Número de animales requeridos para 1 lote : 24

Ruta de administración de la vacuna : Subcutánea

35

Volumen de inyección : 0,5 ml

Nº de días de guarda de los animales : 35

La potencia del antígeno aP fue determinada en ratones suizos mediante el método ELISA. Se realizó tres diluciones de la vacuna de prueba (sin diluir, 1:5, 1:25). Se seleccionó tres grupos de 8 ratones suizos y cada grupo fue inmunizado con sus respectivas diluciones. A cada ratón del grupo de prueba se le inyectó por vía subcutánea 0,5 ml de vacunas diluidas. Se realizó la recolección final de sangre el día 35. Las muestras de suero fueron ensayadas para determinar su contenido de anticuerpos contra Hib usando el método ELISA. La muestra pasa la prueba de potencia de aP si $\geq 70\%$ de los ratones en el grupo control son seroconvertidos.

4. Antígeno de *Haemophilus influenzae* de tipo b

Especie animal requerida : Ratón suizo

Número de animales requeridos para 1 lote : 16 (8 para inmunización, 8 como control)

Ruta de administración de la vacuna : Subcutánea

Volumen de inyección : 0,5 ml

Nº de días de guarda de los animales : 35

La prueba de potencia del antígeno Hib b se llevó a cabo en ratones suizos mediante el método ELISA. En esta prueba, se seleccionó dos grupos (grupos de prueba y control), cada uno con 8 ratones. A cada ratón del grupo de prueba se le inyectó por vía subcutánea 0,5 ml de vacunas diluidas 1:4 y el grupo de control se dejó sin inocular. Se entregó una dosis de refuerzo en los días 10 y 20 y se hizo la recolección final de la sangre el día 35. Las muestras de suero fueron ensayadas para determinar su contenido de anticuerpos contra Hib usando el método ELISA. La muestra pasa la prueba de potencia de Hib si $> 50\%$ de los ratones en el grupo control son seroconvertidos.

5. Antígeno de superficie de hepatitis B

Especie animal requerida : Ratones Balb C

Número de animales requeridos para 1 lote : 110 (50 para la muestra, 50 como referencia, 10 para placebo)

Ruta de administración de la vacuna : intraperitoneal

Volumen de inyección : 1,0 ml

Nº de días de guarda de los animales : 28

36

La prueba de potencia del antígeno de superficie de la hepatitis B se llevó a cabo en ratones Balb/C. En esta prueba, se preparó cinco diluciones a la mitad de la referencia y de la vacuna de prueba y se inoculó diez ratones por vía intraperitoneal por dilución. Se inoculó diez ratones con diluyente, los que sirvieron como placebo. Los ratones inoculados fueron desangrados el día 28 después de la inoculación y se separó el suero sin dejar que hubiera hemólisis. Se ensayó los títulos de anticuerpos contra hepatitis B de las muestras de suero mediante ELISA. La muestra pasa la prueba de potencia de hepatitis B si el límite superior de su potencia relativa es > 1 .

6. Vacuna de polio inactivada (VPI)

Especie animal requerida : Ratas Wistar

Número de animales requeridos para 1 lote : 100 (50 para la vacuna de prueba, 50 para la vacuna de referencia)

Ruta de administración de la vacuna : intramuscular

Volumen de inyección : 0,5 ml

Nº de días de guarda de los animales : 21

La prueba de potencia de VPI se llevó a cabo en ratas RIVM TOX. Se preparó cinco diluciones en tres de la referencia y de la vacuna de prueba y se inyectó por vía intramuscular 0,5 ml de cada dilución a 10 ratas. Se desangró a los animales de prueba 21 días después de la inmunización y se colectó muestras de suero cuidadosamente para evitar la lisis de los glóbulos rojos. Se ensayó cada muestra de suero de acuerdo a sus títulos de anticuerpos contra los serotipos de poliovirus de tipo 1, tipo 2 y tipo 3 mediante una prueba de neutralización de suero.

La prueba no es válida, a menos que:

- la dosis efectiva media (DE_{50}) para la vacuna de prueba y la vacuna de referencia caiga entre la dosis menor y la dosis mayor entregada a los animales;
- el análisis estadístico no muestre una desviación significativa de la linealidad o el paralelismo;
- los límites de confianza de la potencia relativa estimada caigan entre un 25% y un 400% de la potencia estimada.

B] Datos de estabilidad de la potencia de los antígenos en la vacuna de la invención

Se llevó a cabo las pruebas como se explica en el Ejemplo III A] para todos los antígenos de la vacuna hexavalente del Ejemplo II. Los resultados se tabulan en la tabla que sigue.

37

Tabla 3:

Nº de serie	Componentes		Límites de Aceptación	Estudio de Largo Plazo (5°C ± 3°C)
				6 meses
1	Pertúsico acelular (aP) (Potencia)		≥ 70 %	100 %
2	Antígeno Hib b (polisacárido capsular) (Potencia)		≥ 50 %	100%
3	Antígeno de superficie de hepatitis (Hep) B (HBsAg) (Potencia)		≥ 1,0	1,18
4	Poliovirus inactivado (VPI) (Potencia)	Tipo 1	La potencia de la vacuna de prueba no debe ser menor que la de la vacuna de referencia	Pasa
		Tipo 2		Pasa
		Tipo 3		Pasa

Así, puede verse que incluso después del almacenamiento a largo plazo de la vacuna a 5± 3°C, los antígenos de la vacuna tienen aún potencia/inmunogenicidad por encima de los límites de aceptación.

Reivindicaciones:

1. Una vacuna combinada estable completamente líquida que comprende antígenos diftérico (D), tetánico (T), pertúsico acelular (aP), de *Haemophilus influenzae* (Hib) y poliovirus (VPI), en donde Hib no está sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante.
2. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde Hib está conjugado con una proteína portadora seleccionada a partir de un grupo que comprende el toxoide tetánico, el toxoide diftérico, CRM 197 y la proteína de membrana externa de *Neisseria meningitidis*, o cualquier equivalente de los mismos, o cualquier otro portador conocido.
3. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde el antígeno Hib se deriva del polisacárido capsular de la cepa Hib b.
4. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde los antígenos VPI son cepas Salk seleccionadas a partir del grupo consistente en las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3, o cepas Sabin seleccionadas a partir del grupo consistente en las cepas Sabin 1 o 2.
5. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde los antígenos D, T y aP están adsorbidos sobre fosfato de aluminio.
6. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde el aP comprende al menos uno o más antígenos seleccionados a partir del grupo formado por toxoide pertúsico (TP), hemaglutinina filamentosa (HAF), pertactina (P69 o PRN) y proteínas fimbriales (FIM 1, 2 y 3).
7. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, que comprende D, T, aP (TP, HAF, PRN), Hib b y VPI (Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2, y Saukett de tipo 3), en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 25 Lf, TP está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 µg, HAF está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 µg y PRN está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 15 µg por cada 0,5 ml, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 20 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 1 – 50 DU, 1 – 15 DU y 1 – 50 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml.
8. La vacuna reivindicada en la reivindicación 7, en donde la vacuna comprende D, T, aP (TP, HAF, PRN), Hib b y VPI, en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 25 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 10 Lf, TP está presente en una

79

cantidad de alrededor de 25 µg, HAF está presente en una cantidad de alrededor de 25 µg y PRN está presente en una cantidad de alrededor de 8 µg por cada 0,5 ml, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 40 DU, 8 DU y 32 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml.

9. Una vacuna combinada estable completamente líquida que comprende antígenos diftérico (D), tetánico (T), pertúsico acelular (aP), de *Haemophilus influenzae* (Hib), de hepatitis (Hep) y de poliovirus (VPI), en donde los antígenos D, T y aP están adsorbidos sobre fosfato de aluminio y el antígeno Hep está adsorbido sobre hidróxido de aluminio.

10. La vacuna reivindicada en la reivindicación 9, en donde Hib está conjugado con una proteína portadora seleccionada a partir de un grupo que comprende el toxoide tetánico (TT), el toxoide diftérico (TD), CRM 197 y la proteína de membrana externa de *Neisseria meningitidis*, o cualquier equivalente de los mismos, o cualquier otro portador conocido.

11. La vacuna reivindicada en la reivindicación 9, en donde el antígeno Hib no está sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante.

12. La vacuna reivindicada en la reivindicación 9, en donde el antígeno Hib se deriva del polisacárido capsular de la cepa Hib b.

13. La vacuna reivindicada en la reivindicación 9, en donde el antígeno Hep se deriva del antígeno de superficie de la cepa Hep B.

14. La vacuna reivindicada en la reivindicación 9, en donde los antígenos VPI son cepas Salk seleccionadas a partir del grupo consistente en las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3, o cepas Sabin seleccionadas a partir del grupo consistente en las cepas Sabin 1 o 2.

15. La vacuna reivindicada en la reivindicación 9, en donde el aP comprende al menos un antígeno seleccionado a partir del grupo formado por toxoide pertúsico (TP), hemaglutinina filamentosa (HAF), pertactina (P69 o PRN) y proteínas fimbriales (FIM 1, 2 y 3).

16. La vacuna reivindicada en la reivindicación 9, que comprende D, T, aP (TP, HAF, PRN), Hib b, Hep B y VPI (Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2, y Saukett de tipo 3), en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 25 Lf, TP está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 µg, HAF está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 µg y PRN está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 15 µg por cada 0,5 ml, Hib b está presente en una

cantidad de alrededor de 1 – 20 µg y Hep B está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 25 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 1 – 50 DU, 1 – 15 DU y 1 – 50 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml.

17. La vacuna reivindicada en la reivindicación 16, en donde la vacuna comprende D, T, aP (TP, HAF, PRN), Hib b, Hep B y VPI, en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 25 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 10 Lf, TP está presente en una cantidad de alrededor de 25 µg, HAF está presente en una cantidad de alrededor de 25 µg y PRN está presente en una cantidad de alrededor de 8 µg por cada 0,5 ml, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg y Hep B está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 40 DU, 8 DU y 32 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml.

18. Un método para inducir una respuesta inmunológica contra cualquiera de los antígenos seleccionados entre D, T, aP, Hib, Hep o VPI, que comprende administrar a un sujeto una cantidad inmunológicamente activa de la vacuna combinada que se reivindica en las reivindicaciones 1 o 9.

19. Un proceso para fabricar una vacuna combinada estable completamente líquida, que comprende los pasos de:

- a) preparar un componente I que comprende una mezcla de i) antígeno diftérico (D), ii) antígeno tetánico (T) y iii) antígeno pertúsico acelular (aP),
 - b) agregar el Componente I hacia una preparación de antígeno de *Haemophilus influenzae* (Hib) para obtener una mezcla,
 - c) agregar la mezcla anterior a la preparación de antígenos de poliovirus (VPI),
- con la condición de que el Hib no está sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante.

20. El proceso reivindicado en la reivindicación 19, en donde los antígenos D, T y aP están adsorbidos sobre fosfato de aluminio.

21. El proceso reivindicado en la reivindicación 19, en donde el proceso comprende adicionalmente el paso de agregar 2-fenoxietanol (2-POE) como conservante en la formulación.

22. El proceso reivindicado en la reivindicación 19, en donde la preparación del componente I comprende los siguientes pasos:

u1

- a) transferir preparaciones de antígenos diftérico y tetánico junto con el gel de fosfato de aluminio, la solución salina y el 2-POE hacia un recipiente,
- b) transferir preparaciones de antígenos TP, HAF y PRN hacia el recipiente anterior,
- c) agregar solución salina y 2-POE a dicho recipiente para obtener una mezcla, chequear el pH y ajustarlo en un rango entre 6,0-7,0.

23. El proceso reivindicado en la reivindicación 22, comprendiendo adicionalmente los pasos de:

- a) transferir la mezcla anterior hacia la preparación de antígeno Hib para obtener otra mezcla,
- b) mezclar la mezcla obtenida en el paso a) con la preparación de antígeno VPI, chequear el pH y ajustarlo en un rango entre 6,0-7,0.

24. Un proceso para fabricar una vacuna combinada estable completamente líquida, que comprende los pasos de:

- a) preparar un componente I que comprende una mezcla de i) antígeno diftérico (D), ii) antígeno tetánico (T) y iii) antígeno pertúsico acelular (aP),
- b) preparar un componente II que comprende antígeno de la hepatitis (Hep),
- c) combinar los componentes I y II para formar una mezcla,
- d) agregar la mezcla anterior a preparaciones de antígeno Hib y también de antígeno VPI,

con la condición de que los antígenos D, T y aP han sido adsorbidos sobre fosfato de aluminio y el antígeno Hep está adsorbido sobre hidróxido de aluminio.

25. El proceso reivindicado en la reivindicación 24, en donde el proceso comprende adicionalmente el paso de agregar 2-fenoxietanol (2-POE) como conservante en la formulación.

26. El proceso reivindicado en la reivindicación 24, en donde la preparación del componente I comprende los siguientes pasos:

- a) transferir preparaciones de antígenos diftérico y tetánico junto con el gel de fosfato de aluminio, la solución salina y el 2-POE hacia un recipiente,
- b) transferir preparaciones de antígenos TP, HAF y PRN hacia el recipiente anterior,

u2

c) agregar solución salina y 2-POE a dicho recipiente, chequear el pH y ajustarlo en un rango entre 6,0-7,0.

27. El proceso reivindicado en la reivindicación 24, en donde la preparación del componente II comprende los siguientes pasos:

a) transferir un gel de hidróxido de aluminio hacia un recipiente,

b) transferir una preparación de antígeno Hep al recipiente anterior,

c) agregar preparación de solución salina y 2-POE a dicho recipiente, chequear el pH y ajustarlo en un rango entre 6,0-7,0.

28. El proceso reivindicado en la reivindicación 24, en donde la combinación del componente I y el componente II comprende el paso de transferir el contenido del componente II hacia el componente I para obtener una mezcla.

29. El proceso reivindicado en la reivindicación 28, comprendiendo adicionalmente los siguientes pasos:

a) transferir la mezcla que comprende los componentes I y II hacia las preparaciones de antígeno Hib para obtener otra mezcla, chequear el pH y ajustarlo para dejarlo en el rango entre 6,0-7,0,

b) transferir la mezcla obtenida en el paso a) hacia la preparación de antígeno VPI.

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
29 April 2010 (29.04.2010)

(10) International Publication Number
WO 2010/046935 A1

PCT

(51) International Patent Classification:

A61K 39/05 (2006.01) A61K 39/102 (2006.01)
A61K 39/08 (2006.01) A61K 39/13 (2006.01)
A61K 39/10 (2006.01) A61K 39/29 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/IN2009/000600

(22) International Filing Date:

23 October 2009 (23.10.2009)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

2438/DEL/2008 24 October 2008 (24.10.2008) IN

(71) Applicant... (for all designated States except US):

PANACEA BIOTEC LTD. [IN/IN]; B-1 Extn. / A-27,
Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road,
New Delhi 110 044 (IN).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): JAIN, Rajesh

[IN/IN]; B-1 Extn. / A-27, Mohan Co-operative Industrial
Estate, Mathura Road, New Delhi 110 044 (IN). SINGH,
Sukhjeet [IN/IN]; B-1 Extn. / A-27, Mohan Co-operative
Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi 110 044
(IN). JAMBU, Lavit [IN/IN]; B-1 Extn. / A-27, Mohan
Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi
110 044 (IN).

(74) Common Representative: PANACEA BIOTEC LTD.;

B-1 Extn. / A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate,
Mathura Road, New Delhi 110 044 (IN).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every

kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every

kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to the identity of the inventor (Rule 4.17(i))
- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))

(54) Title: COMBINATION VACCINE WITH ACELLULAR PERTUSSIS

(57) Abstract: The present invention relates to a combination vaccine comprising a mixture of antigens for protection against diseases such as diphtheria, tetanus, acellular pertussis, and infections caused by *Haemophilus influenzae* and polio viruses. The present invention also relates to inclusion of antigens for protection against infections caused Hepatitis virus and other pathogens, such that administration of the vaccine can simultaneously immunize a subject against more than one pathogen. The invention in particular relates to a fully liquid stable combination vaccine comprising the antigens as indicated above and the methods for manufacturing the same.

WO 2010/046935 A1

44

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

by fax and post

PCT

To: Panacea Biotec Ltd. B-1 Extn./A-27 Mohan Cooperative Industrial Estate Mathura Road New Delhi 110 044 INDE		3172 PANACEA BIOTEC LTD. (Intellectual Property & Legal Affairs) Registered On 1/4/2011	NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF THE INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY (PCT Rule 71.1)
		Date of mailing (day/month/year)	16.03.2011
Applicant's or agent's file reference aPVAC		IMPORTANT NOTIFICATION	
International application No. PCT/IN2009/000600	International filing date (day/month/year) 23.10.2009	Priority date (day/month/year) 24.10.2008	
Applicant Panacea Biotec Ltd.			

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary report on patentability and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.
4. **REMINDER**

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary report on patentability. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed inventions is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465	Authorized Officer Faux, Katarina Tel. +49 89 2399-8062
---	---

45

PATENT COOPERATION TREATY
PCT
INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY
(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)
(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference aPVAC	FOR FURTHER ACTION		See Form PCT/IPEA/416
International application No. PCT/IN2009/000600	International filing date (day/month/year) 23.10.2009	Priority date (day/month/year) 24.10.2008	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. A61K39/05			
Applicant Panacea Biotec Ltd.			
1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of <u>8</u> sheets, including this cover sheet. 3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising: a. ☒ sent to the applicant and to the International Bureau) a total of <u>5</u> sheets, as follows: ☒ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions). ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box. b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see paragraph 3bis of Annex C of the Administrative Instructions).			
4. This report contains indications relating to the following items: ☒ Box No. I Basis of the report ☐ Box No. II Priority ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability ☒ Box No. IV Lack of unity of invention ☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement ☐ Box No. VI Certain documents cited ☐ Box No. VII Certain defects in the international application ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application			
Date of submission of the demand 2010-05-22		Date of completion of this report 16.03.2011	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465		Authorized officer Heder, Andreas Telephone No. +49 89 2399-7102	



46

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/IN2009/000600

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the **language**, this report is based on
- ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of:
 - ☐ international search (under Rules 12.3(a) and 23.1(b))
 - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
 - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a))
2. With regard to the **elements*** of the international application, this report is based on (*replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report*):

Description, Pages

1-32 as published

Claims, Numbers

1-27 filed with the letter of 21-02-2011

- ☐ a sequence listing - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.
3. ☒ The amendments have resulted in the cancellation of:
- ☐ the description, pages
 - ☒ the claims, Nos. 28, 29
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (*specify*):
 - ☐ any table(s) related to sequence listing (*specify*):
4. ☒ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since either they are considered to go beyond the disclosure as filed, or they were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rules 70.2(c) and (c-bis)):
- ☐ the description, pages
 - ☒ the claims, Nos. 7, 21-23
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (*specify*):
5. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 70.2 (e)).
6. ☐ Supplementary international search report(s) from Authority(ies) have been received and taken into account in drawing up this report (Rule 45bis.8(b) and (c)).

47

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/IN2009/000600

Box No. IV Lack of unity of invention

1. ☐ In response to the invitation to restrict or pay additional fees, the applicant has, within the applicable time limit:
- ☐ restricted the claims.
 - ☐ paid additional fees.
 - ☐ paid additional fees under protest and, where applicable, the protest fee.
 - ☐ paid additional fees under protest but the applicable protest fee was not paid.
 - ☐ neither restricted the claims nor paid additional fees.
2. ☒ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.
3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is:
- ☐ complied with.
 - ☒ not complied with for the following reasons:
see separate sheet
4. Consequently, this report has been established in respect of the following parts of the international application:
- ☒ all parts.
 - ☐ the parts relating to claims Nos. .

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-27</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-27</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-27</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

48

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/IN2009/000600

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

49

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IN2009/000600

- 1 The basis in the original application for the amendments effected in present claims 7, and 21-23 has not been provided (Rule 70.2(c-bis) PCT). This report has been established as if the amendments to said claims had not been made.

Re Item IV

Lack of unity of invention

- 2 The present application relates to two potential inventions:
- 3 Invention 1: Claims 1-12 concern a vaccine comprising Diphteria (D), Tetanus (T), acellular pertussis (aP), Haemophilus influenza (Hib), and Polio-IPV antigens, wherein Hib is not substantially adsorbed to an adjuvant
- 4 Invention 2: Claims 13-27 concern a vaccine comprising Diphteria (D), Tetanus (T), acellular pertussis (aP), Haemophilus influenzae (Hib), Polio-IPV, and Hepatitis (Hep) antigens, wherein D, T, and aP antigens are adsorbed to aluminum phosphate, and Hep antigen is adsorbed to aluminum hydroxide.
- 5 All claims were searched by the ISR.
- 6 The present opinion is drawn up regarding all present claims.

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

The following documents are cited (see the ISR):

- D1 WO2005/089794 A2,
D2 US 5877298 A,
D3 EP 1967204 A1,

50

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IN2009/000600

and in addition, cited by the IPEA:

D4 Papavangelou (1998) Vaccine 16:S69-S72,

D5 Kanra et al (2003) Pediatrics International 45:314-318

Copies of D4 and D5 are annexed to this communication.

- 7 Claims **7** and **20** relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 39.1(iv) / 67.1(iv) PCT. The patentability can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment. Patentability, in particular novelty and inventive step, of said claims has been assessed on the basis of a purpose-limited product claim taking into account the alleged effects of the substance or composition.
- 8 Present claim **1** relates to a **liquid combination vaccine** comprising the following antigens:
- Diphtheria (**D**), Tetanus (**T**), acellular pertussis (**aP**),
 - Haemophilus influenzae (**Hib**),
 - **IPV** (inactivated polio vaccine),
- wherein Hib is not substantially adsorbed to an adjuvant,
wherein Hib is conjugated to "*any ... known carrier*",
and IPV is selected from one of the recited Sabin or Salk strains.
- 9 The vaccine of independent claim **13** contains the same antigens as in claim 1, and, in addition Hepatitis (**Hep**) antigen.
- 10 **Dependent claims** relate to specifics of the recited antigens (claims 2, 4, 15, 16), adsorption to adjuvants or lack thereof (claims 3, 14), specific amounts of the recited antigens (claims 5, 6, 18, 19), as well as uses and methods of manufacture (claims 20-27).

51

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IN2009/000600

- 11 **D1** teaches a combination vaccine which is D-T-P-IPV-Hib, wherein Hib is a Hib conjugate, and Hib is not adsorbed to adjuvant (see D1, claims 8, 10, and 15, see also p.6). The composition of the vaccine is also recited on pp.2-6 of D1 which further discloses adjuvants, e.g. aluminum hydroxide (AH) and aluminum phosphate (AP), and lack of adsorption of Hib to adjuvant (see p.6 of D1), as well as antimicrobials such as 2-phenoxyethanol (see p.14 of D1).
- 12 **D2** (see col. 18 and 19) teaches DaPT vaccine formulations using various B.pertussis antigens. **D3** (see pp. 21, and 23) discloses hexavalent D-T-aP-HBV-IPV-Hib vaccines ("*Hexavax*", see also **D4**, Tab.4). **D5** (see "*Discussion*") investigates Hib-CRM197 conjugated vaccine adjuvanted with AH, AP or no adjuvant and teaches that there is no interference with D, T, aP, or HBV vaccines.
- 13 Present claim 1 is formally novel for the following reason. While all other features recited in claim 1 are disclosed, e.g. in D1 (see item 11 above), the restriction to the specific IPV antigens of claim 1 which are not mentioned in D1 establishes novelty. The remaining claims are formally novel, as well.
- 14 However, claims 1-12 (belonging to invention 1), and 13-27 (belonging to invention 2) do not involve an **inventive step**. Claim 1 relates to a vaccine comprising D, T, aP, Hib, and IPV antigens wherein IPV is selected from a restricted group of Sabin and Salk strains. D1 is the closest prior art. The difference is that claim 1 recites specific IPV antigens. The **objective technical problem** was thus: the provision of an alternative vaccine. There was motivation to solve the technical problem because of the potential advantages of alternative vaccines (see **D4**, Papavangelou, p. S69). Solving the problem required no more than routine methods. The additional features over D1 were obvious in view of the general knowledge (see **D2-5**). The Sabin and Salk strains which have been included in claim 1 are cited on p.2 of the application in the review of the prior art, and are thus also part of the general knowledge. A skilled person would have tested ranges of antigen amounts in a combination vaccine which ensure sufficient protection without having to administer more antigen than necessary. The skilled person was aware of the necessity to examine the immune response to all components of a combination vaccine because of the known interference of the components of such vaccines with each other (see **D4**, Papavangelou, p.S69) The solution offered by claim 1 is one of many equally obvious alternatives which does not

52

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IN2009/000600

provide any unexpected technical effects. The feature "*fully liquid*" in claim 1 does not introduce an inventive step, either because the vaccine of D1 is also fully liquid, including the Hib conjugate which in D1 does not require reconstitution from a lyophilised preparation.

- 15 The addition of Hep antigen in claim 13 (belonging to invention 2) was also obvious in view of D1 (see claims 14 and 15), and D4 (see p.S71 right column, and Tab.4). The fact that in the case of one hexavalent vaccine cited in D4, Hexavac, suspension was recommended by the European Medicines Agency (EMA), does not amount to a general teaching against such vaccines. Furthermore, said recommendation of suspension was based on concerns regarding long-term protection against hepatitis B. There is no technical data suggesting that the hexavalent vaccine of claim 13 provides any technical effect regarding hepatitis B protection which goes beyond the effect of Hexavac.
- 16 For essentially the same reasons, claims 1-27 all lack an inventive step.

Re Item VIII

Certain observations on the international application

- 17 Furthermore, the present claims are also unclear: In claim 1, the meaning of the term "*stable combination*" is vague. In claim 5, 6, 18, and 19, the term "*about*" is unclear because it leaves the skilled reader wondering as to the actual boundaries of the recited numerical ranges.

53

Clarke, Modet & C^o

COLOMBIA

E-MAIL: info@clarkemodet.com.co
SANTAFÉ DE BOGOTÁ, A.A. 92397 COLOMBIA

CESION

ASSIGNMENT

El (la) abajo firmante (En adelante EL CEDENTE)

The undersigned (Hereinafter THE ASSIGNOR)

1. JAIN, Rajesh
2. SINGH, Sukhjeet
3. JAMBU, Lavit

1. JAIN, Rajesh
2. SINGH, Sukhjeet
3. JAMBU, Lavit

en su carácter de inventor /diseñador
con domicilio en:

- 1.
- 2.
- 3.

Inventor /designor of domiciled at

- 1.
- 2.
- 3.

por el presente documento declara que cede todos y
cada uno de los derechos que le corresponden o
puedan corresponderle sobre la siguiente invención,
modelo de utilidad, diseño industrial No.
PCT/IN2009/000600

do hereby declares that it assigns all and each of this
rights and privileges on the following invention,
industrial design, utility model No. PCT/
IN2009/000600

a: PANACEA BIOTEC LTD.

to PANACEA BIOTEC LTD.

con domicilio en B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-
operative Industrial Estate, Mathura Road, New
Delhi-110044-India.

with domicile in B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-
operative Industrial Estate, Mathura Road, New
Delhi-110044-IN.

En prueba de la mutua aceptación de esta cesión
ambas partes CEDENTE y CESIONARIO firman el
presente documento.

As a proof of the mutual acceptance of this
assignment, both parties ASSIGNOR and
ASSIGNEE sign the present document.

Dado y firmado en
A los Días de De

Granted and signed at
on this 20th day of April of 2011

1. JAIN, Rajesh

1. JAIN, Rajesh

El Cedente /The Assignor

El Cedente /The Assignor

2. SINGH, Sukhjeet

2. SINGH, Sukhjeet

El Cedente /The Assignor

El Cedente /The Assignor

3. JAMBU, Lavit

3. JAMBU, Lavit

El Cedente /The Assignor

El Cedente /The Assignor

ATTESTED

(JASPREM SINGH)
Asstt. Secretary
Delhi Chamber of Commerce
New Delhi

El Cesionario/The Assignee

El Cesionario/The Assignee

For Panacea Biotec Ltd.

PREM SINGH PANWAR
Senior Manager

Intellectual Property & Legal Affairs
B-1 Extn. A-27, Mohan Co-operative Ind. Estate,
New Delhi-110044

Este documento debe ser otorgado ante Notario

(This document must be signed before Notary Public)

25 APR 2011

54

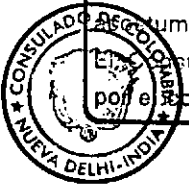
PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE 400/0
PAGADOS DERECHOS CONSULARES 000/0

**CONSULADO DE COLOMBIA
NUEVA DELHI**

No. 440/2011

El suscrito Cónsul de Colombia CERTIFICA
que el señor R. P. MORDHWAJ
que autoriza el presente documento, ejercía
legítimamente en la fecha allí expresada las
funciones de Section Officer (O.I.)
Ministry of External Affairs
y que la firma y sello que en el documento
aparecen como suyos son los que usa y
cumbra en sus actos oficiales.
El Cónsul no asume responsabilidad alguna
por el contenido del documento.

1 MAY 2011



Lina Mano Fajardo
LINA FAJARDO
Counsellor

दिनांक
Date
74973
सचिव/उप सचिव
Secretary/Deputy Secretary
The Secretary
Deputy Secretary of Chamber
of Commerce Attached

26 APR 2011



(आर. पी. मोरधवाज)
(R. P. MORDHWAJ)
अनुभाग अधिकारी (ओ.आई.)
Section Officer (O.I.)
विदेश मंत्रालय, नई दिल्ली
Ministry of External Affairs
New Delhi

For Pausces E. 100.00

PREMIER



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-063979- -00000-0000

Fecha: 2011-05-24 14:55:44

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 379 FASENACIONALII

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 54

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
RODRIGUEZ D' ALEMAN DILIA MARIA
Apoderado(a) y/o Representante de
PANACEA BIOTEC LTD.

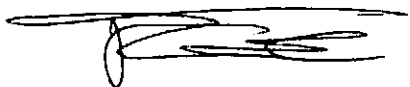
REFERENCIA	Radicación No.	11 063979
	Solicitud internacional	PCT/IN2009/000600
	Fecha inicio fase nacional	24/05/2011
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	439
	Oficio No.	15040

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.



JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
Director de Nuevas Creaciones (C)

23 SET. 2011

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____.
adpa11