



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

04-23092

21. EXPEDIENTE N° _____

54. TÍTULO "INTERLEUCINA-12 COMO ADYUVANTE DE VACUNA VETERINARIA" _____

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61D _____

71. SOLICITANTE WYETH _____

DOMICILIO MADISON, ESTADO DE NEW JERSEY, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA _____

74. REPRESENTANTE LEGAL JOSE ANTONIO LLORENDA _____

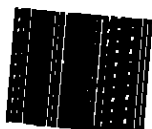
I.P.10.784
Código 231

22. BOGOTÁ, D.C. 12 MAR. 2004 _____

QF

PETITORIO


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



04 023092 00

REGISTRAR GENERAL DE MARCAS
Adicación: 04023092 00000000 Folios: 138
Fecha (AEP): 2004-03-12 16:02:31
Tipo: 811 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVOS CREADORES

**FORMULARIO UNICO 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: **WYETH**Dirección: Five Giralda Farms, Madison,
NJ 07940-0874, Estados Unidos de América.Nacionalidad o Domicilio: Madison, Estado de
New Jersey, Estados Unidos de América.
Lugar de Constitución: Estado de Delaware,
Estados Unidos de América.

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACIONC.C. ☐ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

**REPRESENTANTE
APODERADO**Nombre: **JOSE ANTONIO LLOREDA**Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º,
Bogotá- Colombia

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C. ☒ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 17.159.681 TP 10.784

④

**INVENTOR(ES)
(72)**Nombre: **CHU, Hsien-Jue**Dirección: 1506 13th Avenue North, Fort Dodge, IA 50501

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América.

PCT (86)

⑤

Solicitud Internacional No. PCT/US02/29229Fecha: 13/09/02Publicación Internacional No. WO 03/024354 A2Fecha: 27/03/03

⑥

Título (54) "INTERLEUCINA-12 COMO ADYUVANTE DE VACUNA VETERINARIA"

⑦

Clasificación Internacional (51) A61D

⑧

PrioridadSI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

US y US

(32) Fecha

17/09/01 y 12/09/02

(31) Número de Solicitud

60/322,840 y 10/243,075

⑨

Comprobante de Pago No. 04-13,730**Fecha: Febrero 23 de 2004**

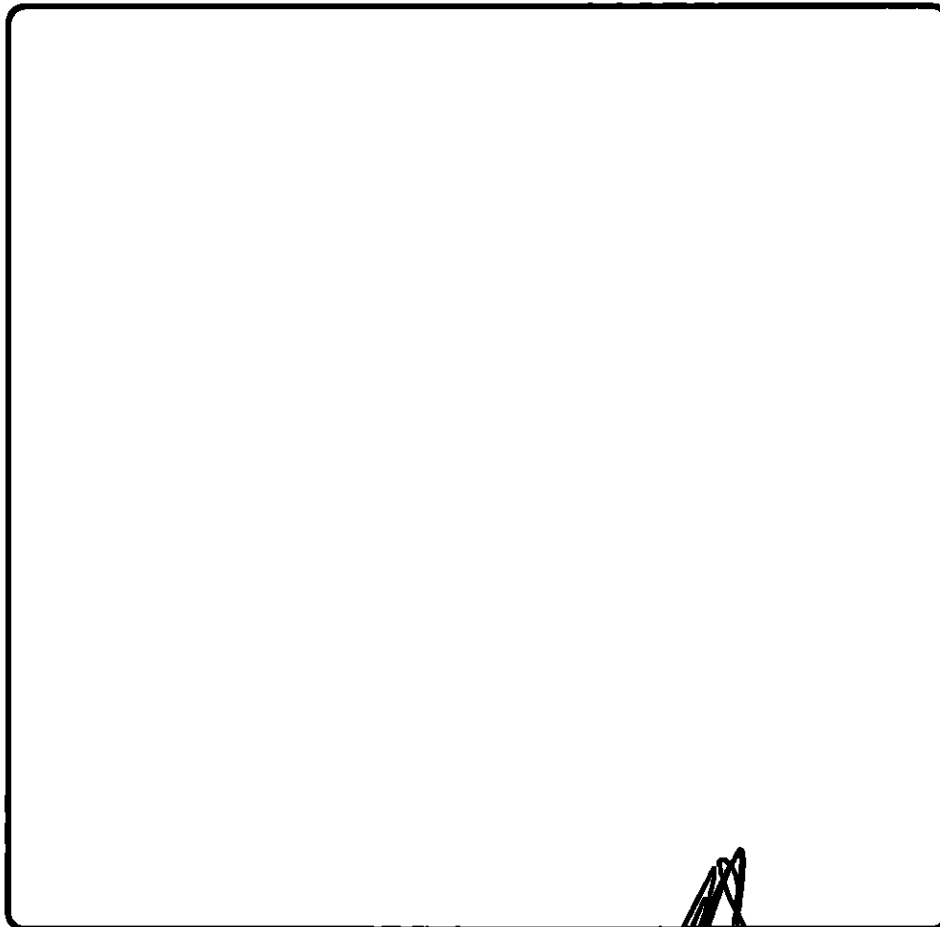
10

ANEXOS

- ☒ 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.
- ☒ Documento de Representación Legal.
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (resumen, descripción, reivindicaciones)
- ☐ 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 del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros Reporte de búsqueda internacional con su traducción, publicación con su traducción, Opinión Escrita con su traducción, Solicitud de Examen Preliminar, capítulo reivindicatorio como fue originalmente presentado en fase internacional con su traducción y anexo explicativo de modificaciones a las reivindicaciones.

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: JOSE ANTONIO LOREDA

FIRMA:

C.C. 17.159.681 Btá. T.P. 10.784

2

NIT : 800176089-2
Radicacion : 04022002 00000000
Fecha (MHD): 2004-03-12 10:02:31
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NRCI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Folios: 138

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 13,730
FECHA : FEBRERO 23 DE 2004

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
LLORED A Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	21912935	23/02/2004	4,353,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	422,000.00
	TOTAL :	\$ 422,000.00

SON: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

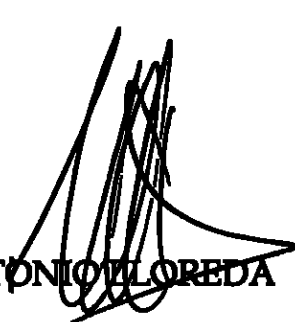
RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

2

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores JOSE ANTONIO LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o ANGELA MARIA RESTREPO y/o ALICIA LLOREDA para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se está presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.



JOSE ANTONIO LLOREDA

T.P. No. 10.784

Código 231

3

Wyeth

4

TRADUCCION OFICIAL No. 2002-07-03-411
DE UN DOCUMENTO PRESENTADO EN INGLES

PODER

Legalización de un Poder de Representación Legal conferido a: JOSE ANTONIO LLOREDA, y/o GUSTAVO TAMAYO, y/o ANGELA MARIA RESTREPO, y/o ALICIA LLOREDA, por WYETH.

Documento escrito simultáneamente en Inglés y en español, dado y firmado este día 7 de junio de 2002.

(firma: ilegible)

William H. Calnan; Subsecretario

Certificado Notarial (corporación), documento también escrito en Inglés y en español, firma ilegible por Michelle L. Kalbfell.

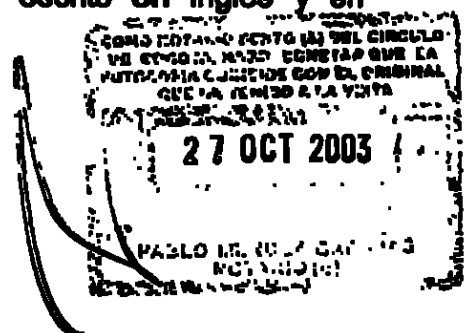
Hay un sello Notarial que dice:

MICHELLE L. KALBFELL

Notario Público, Estado de New Jersey

No. 2108903

La Comisión Expira el 25 de octubre de 2005



APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
2. Este documento público ha sido firmado por:
MICHELLE L. KALBFELL

3. actuando como:
NOTARIO PÚBLICO DE NEW JERSEY
4. lleva el sello/estampilla de
MICHELLE L. KALBFELL, NOTARIO

CERTIFICADO

5. en TRENTON, NEW JERSEY
6. el día 10 de junio de 2002
7. por: John E McCormac, CPA; TESORERO DE NEW JERSEY
8. NO. A152470
9. Sello/Estampilla
Hay un sello dorado.
10. Firma: (ilegible)

Traducido a mi mejor saber y entender, este día 3 de julio de 2002, en la ciudad de Santafé de Bogotá, por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTOR OFICIAL
RESOLUCION 2177
Anita Escobar de Tamayo
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

6

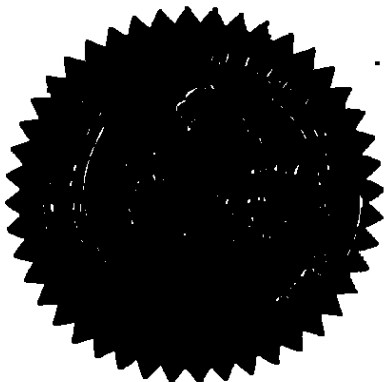
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

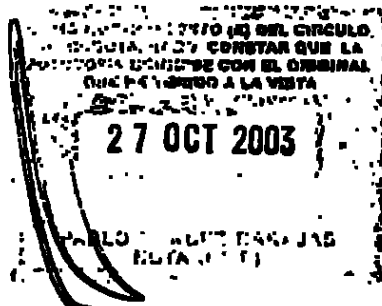
1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA
2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
MICHELLE L KALBFELL
3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
MICHELLE L KALBFELL, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 10TH DAY OF JUNE 2002
7. BY: John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER
8. NO. A152470
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



John E McCormac



Los abajo firmados,

Wyeth

Organizada y Existente de Conformidad
con las leyes del Estado de Delaware,
Estados Unidos de América

con domicilio en

Five Giralda Farms
Madison, New Jersey 07940
Estados Unidos de América

nombramos por el presente a JOSE ANTONIO LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o ANGELA MARIA RESTREPO y/o ALICIA LLOREDA, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6º., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores JOSE ANTONIO LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o ANGELA MARIA RESTREPO y/o ALICIA LLOREDA, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos y recursos; formular descripciones, enmiendas, oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones y amparos administrativos; abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistír, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores JOSE ANTONIO LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o ANGELA MARIA RESTREPO y/o ALICIA LLOREDA, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

William H. Calnan; Secretario Asistente

The undersigned,

Wyeth

Five Giralda Farms
Madison, New Jersey 07940
United States of America

of

Organized and existing under
the laws of Delaware, United
States of America.

hereby appoint JOSE ANTONIO LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO, and/or ANGELA MARIA RESTREPO and/or ALICIA LLOREDA, of Bogotá, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

Doctors JOSE ANTONIO LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or ANGELA MARIA RESTREPO and/or ALICIA LLOREDA, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses, cancellations and administrative injunction proceedings; to draw up specifications; to file amendments, oppositions and appeals, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required; and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors JOSE ANTONIO LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or ANGELA MARIA RESTREPO and/or ALICIA LLOREDA, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this 7th day of June 2002



William H. Calnan; Assistant Secretary
NOTA RY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE

CERTIFICADO NOTARIAL (INDIVIDUO)

Estados Unidos de América
Estado de {ss}
Condado de

A los días del mes de de 20
compareció personalmente ante mí, Notario
Público en y por el condado antes citado,

a quien doy fe de conocer y me consta
que es/son la persona descrita y firmante del
documento que precede, declarando ante mí que
otorga el mismo para los fines y propósitos que en él
se expresan.

Notary Public (Notario Público).

NOTARIAL CERTIFICATE (INDIVIDUAL)

United States of America
State of {ss}
County of

On this day of , 20 , personally
appeared before me, a Notary Public, in and for the
above mentioned county,

to me known to be the person described in and
who executed the foregoing document, and who duly
acknowledged to me that executed same for the
uses and purposes therein expressed.

CERTIFICADO NOTARIAL (INDIVIDUO)

Estados Unidos de América
Estado de {ss}
Condado de

A los días del mes de de 20
compareció personalmente ante
mí, Notario Público en y por el condado antes citado,

a quien doy fe de conocer y me consta
que es/son la persona descrita y firmante del
documento que precede, declarando ante mí que
otorga el mismo para los fines y propósitos que en él
se expresan.

Notary Public (Notario Público).

NOTARIAL CERTIFICATE (INDIVIDUAL)

United States of America
State of {ss}
County of

On this day of , 20 , personally
appeared before me, a Notary Public, in and for the
above mentioned county,

to me known to be the person described in and who
executed the foregoing document, and who duly
acknowledged to me that executed same for the
uses and purposes therein expressed.

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Estados Unidos de América
Estado de New Jersey {ss}
Condado de Morris

Hoy 7 de Junio de 2002, compareció
William H. Calnan , a quien conozco y
de quien me consta que firmó el anterior documento,
y quien debidamente juramentado declaró y dijo que
es Secretario Asistente

de Wyeth
la compañía nombrada en
el documento que antecede, una sociedad
debidamente organizada y existente conforme a las
leyes del Estado de Delaware , Estados
Unidos de América, domiciliada en la ciudad de
Madison , Condado de Morris
Estado de New Jersey , Estados Unidos de
América, legalmente constituida para un período de
duración que aún no ha terminado, que ejerce
legalmente su objeto conforme a las leyes del Estado
de Delaware- , Estados Unidos de América; que el
declarante está autorizado por dicha Compañía
para conferir este poder, que el sello estampado por
él al pie de tal poder, en nombre y en representación
de la expresada Compañía, es el sello oficial de ella;
y que el objeto para el cual se confiere este
instrumento está comprendido dentro del de la
sociedad.

El suscrito Notario ha visto los Estatutos de
Incorporación firmados en Madison
Estado de New Jersey, con fecha Abril 25, 2002
y certifica que de conformidad con la legislación de
dicho Estado la anterior declaración juramentada es
prueba suficiente de que los hechos sobre que ella
versa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

Notary Public (Notario Público).

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

United States of America
State of New Jersey {ss}
County of Morris

On this 7th day of June , 2002 ,
personally came William H. Calnan

to me known, and known to me to be the person who
signed the foregoing instrument, who being by me
duly sworn did depose and say that he is a
Assistant Secretary of Wyeth, Inc., a
corporation organized and existing under
the laws of the State of Delaware, United States
of America, domiciled at the City of Madison,
County of Morris, State of New Jersey,
United States of America, legally constituted for a
period of tenure not yet expired; which exercises its
corporate purposes according to the laws of the State
of Delaware, United States of America; that the
deponent is authorized by said Company to confer
this power of attorney; that the seal affixed hereunto
by the deponent in the name and on behalf of said
Corporation is the corporate seal thereof; and that the
purpose for which this instrument is granted is
included within the corporate purposes of the
Company.

The undersigned Notary Public has seen the articles
of Incorporation of said Corporation executed at
Madison , State of New Jersey, under date of
April 25, 2002 , and hereby
certifies that under the laws of said State the
foregoing acknowledgment is sufficient proof that the
facts therein contained are true, which he attests.

Michelle L. Kalpell
MICHELLE L. KALPELL
NOTARY PUBLIC, State of New Jersey
No. 2108803
Qualified in Morris County
Commission Expires Oct. 25, 2005

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES
PCT
REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

(PCT Artículo 18 y Reglas 43 y 44)

Registro de referencia del solicitante o agente AM 100124	PARA FUTURAS ACCIONES ver Notificación o Transmisión del Reporte de Búsqueda Internacional (Forma PCT/ISA/220) así como, donde aplique, el ítem 5 a continuación.	
Solicitud internacional No. PCT/US02/29229	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 13 de septiembre de 2002 (13.09.02)	Fecha de Prioridad (Primera) (día/mes/año) 17 de septiembre de 2001 (17.09.2001)
Solicitante WYETH		

Este Reporte de Búsqueda Internacional ha sido preparado por esta Autoridad de Búsqueda Internacional y es transmitido al solicitante Según el Artículo 18. Una copia será transmitida a la Oficina Internacional.

Este Reporte de Búsqueda Internacional consta de un total de 3 hojas.
☒ También está acompañado de una copia de cada documento técnico anterior citado en este reporte.

1. Bases del reporte

- a. Respecto al lenguaje, la búsqueda internacional se llevó a cabo según la solicitud internacional en el lenguaje en el cual se presentó, a menos que se indique de otro modo en este ítem.
☐ la búsqueda internacional se llevó a cabo según la traducción de la solicitud internacional proporcionada a esta Autoridad (Regla 23.1(b)).
- b. Respecto a una secuencia de ácido nucleótico y/o amino revelado en la solicitud internacional, la búsqueda internacional se llevó a cabo según la lista de la secuencia:
☐ contenido en la solicitud internacional en forma escrita.
☐ presentada junto con la solicitud internacional en forma legible por computador.
☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad en forma escrita.
☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad en forma legible por computador.
☐ se ha proporcionado la afirmación de que el listado de secuencias escrito proporcionado subsiguientemente no va más allá de la revelación en la solicitud internacional según se presentó.
☐ se ha proporcionado la afirmación de que la información registrada en forma legible por computador es idéntica al listado de la secuencia escrita.
2. ☐ Ciertas reivindicaciones no pudieron localizarse (Ver Recuadro I).
3. ☐ Falta unidad de invención (ver Recuadro II).
4. Respecto al título,
☒ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante.
☐ Esta Autoridad ha establecido que el texto se lee así:
5. Respecto al resumen,
☒ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante.
☐ Esta Autoridad ha establecido el texto de acuerdo con la Norma 38.2(b), según aparece en el Recuadro III. El solicitante puede, un mes después de la fecha de haber enviado por correo este reporte de búsqueda internacional, presentar comentarios a esta Autoridad.
6. La figura de los dibujos que se publicará con el resumen es la Figura No. _____
☐ como lo sugirió el solicitante.
☐ porque el solicitante no sugirió una figura.
☐ porque esta figura caracteriza mejor a la invención.
☐ Ninguna de las figuras.

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
 PCT/US02/29229

A. CLASIFICACION DE MATERIA IPC (7): A61K 38/19, 38/20, 38/21 US CL : 514/2, 8, 12; 424/85.1, 85.2, 85.4, 184.1, 198.1, 278.1 Según la Clasificación de Patentes Internacional (CPI) o según la clasificación nacional y la CPI		
B. CAMPOS BUSCADOS Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de símbolos de clasificación) U.S.: 514/2, 8, 12; 424/85.1, 85.2, 85.4, 184.1, 198.1, 278.1 Documentación buscada fuera de documentación mínima hasta donde dichos documentos se incluyan en los campos buscados NINGUNO Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, donde sea práctico, buscar términos usados) Favor ver página siguiente		
C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría *	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
A	WO 97/45139 A2 (GENETICS INSTITUTE, INC.) 4 de diciembre de 1997 (04.12.1997), ver todos los documentos.	1-51
A	US 6,071,893 A (GRAHAM et al) 6 de junio de 2000 (06.06.2000), ver todos los documentos	1-51
X	JANKOVIC et al. La absorción a Hidróxido de Aluminio promueve la Actividad de IL-12 como un Adyuvante para Anticuerpos así como Respuestas de Citocina tipo 1 para HIV-1 gp 120. The Journal of Immunology, 1997, Vol.159, páginas 2409-2417, especialmente resumen y página 2414.	1-6, 18-23, 42-50
Y		36,51
☐ En el recuadro C se enumeran más documentos. ☐ En el anexo se enumeran miembros de la familia de patentes.		
* Categorías especiales de documentos citados:		
'A' documento que define el estado general de la técnica el cual no se considera de relevancia particular	'T' documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud pero citado para entender el principio o teoría que sustenta la invención	
'E' documento anterior pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional	'X' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se toma solo	
'L' documento que puede arrojar dudas sobre reivindicaciones de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra citación u otra razón especial (según se especifica)	'Y' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o más documentos, siendo dicha combinación obvia para una persona experta en la técnica	
'O' documento que se refiere a una revelación oral, uso, exhibición u otros medios	'&' documento miembro de la misma familia de patentes	
'P' documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada		
Fecha de la terminación real de la búsqueda internacional 6 de junio de 2003 (06.06.2003)	Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional 13 de agosto de 2003	
Nombre y dirección de correo de ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Fax No. (703) 305-3230	Funcionario autorizado Prema M. Mertz Tel No. (703) 308-0196	

· **REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL**

Solicitud Internacional No.
PCT/US02/29229

Continuación de B. CAMPOS BUSCADOS ITEM 3:
CAS ONLINE, MEDLINE, CAPLUS, USPATFULL
términos de búsqueda: vacuna, inmunomodulador, inmunoadyuvante, citocinas, interleucina-12.

PATENT COOPERATION TREATY

Wyeth
AH 100124

M

12

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
ANNE M. ROSENBLUM
ATTORNEY - AT - LAW
163 DELAWARE AVENUE
SUITE 212
DELMAR, NY 12054

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Date of Mailing (day/month/year) 13 AUG 2003	
Applicant's or agent's file reference AM100124	FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below
International application No. PCT/US02/29229	International filing date (day/month/year) 13 September 2002 (13.09.2002)
Applicant WYETH	

- ☒ The applicant is hereby notified that the international search report has been established and is transmitted herewith.
Filing of amendments and statement under Article 19:
 The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the international application (see Rule 46):
 When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the international search report.
 Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34, chemin des Colombettes
 1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 740.14.35
 For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.
- ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect is transmitted herewith.
- ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:
 - ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
 - ☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.
- Reminders**
 Shortly after 18 months from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90 Mr.1 and 90 Mr.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.
 Within 19 months from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later); otherwise the applicant must, within 20 months from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.
 In respect of other designated Offices, the time limit of 30 months (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.
 See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the PCT Applicant's Guide, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 305-3230	Authorized officer <i>Patricia D. Roberts for</i> Frank M. Morris Telephone No. (703) 308-0196
---	---

Form PCT/ISA/220 (April 2002)

(See notes on accompanying sheet)

2

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference AM100124	FOR FURTHER ACTION	see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, Item 5 below.
International application No. PCT/US02/29229	International filing date (day/month/year) 13 September 2002 (13.09.2002)	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 17 September 2001 (17.09.2001)
Applicant WYETH		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 3 sheets.



It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the Report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.



the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

b. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing:



contained in the international application in written form.



filed together with the international application in computer readable form.



furnished subsequently to this Authority in written form.



furnished subsequently to this Authority in computer readable form.



the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.



the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box I).

3. ☐ Unity of invention is lacking (See Box II).

4. With regard to the title,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____



as suggested by the applicant.



because the applicant failed to suggest a figure.



because this figure better characterizes the invention.



None of the figures

Form PCT/ISA/210 (first sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US02/29229

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7) : A61K 38/19, 38/20, 38/21

US CL : 514/2, 8, 12; 424/85.1, 85.2, 85.4, 184.1, 198.1, 278.1

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 514/2, 8, 12; 424/85.1, 85.2, 85.4, 184.1, 198.1, 278.1

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
NONEElectronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
Please See Continuation Sheet

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 97/45139 A2 (GENETICS INSTITUTE, INC.) 04 December 1997 (04.12.1997), see entire document.	1-51
A	US 6,071,893 A (GRAHAM et al) 06 June 2000 (06.06.2000), see entire document.	1-51
X	JANKOVIC et al. Adsorption to Aluminum Hydroxide Promotes the Activity of IL-12 as an Adjuvant for Antibody as Well as Type 1 Cytokine Responses to HIV-1 gp120. The Journal of Immunology. 1997, Vol. 159, pages 2409-2417, especially abstract and page 2414.	1-6, 18-23, 42-50
Y		36, 51

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"T" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

06 June 2003 (06.06.2003)

Date of mailing of the international search report

19 AUG 2003

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. (703)305-3230

Authorized officer

Teresa D. Roberts for

Telephone No. (703) 308-0196

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/U902/29229

15

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3: X
CAS ONLINE, MEDLINE, CAPLUS, USPATFULL
search terms: vaccine, immunomodulator, immunoadjuvant, cytokines, interleukin-12

SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional
27 de Marzo de 2003 (27.03.2003)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 03/024354 A2 ✓

(51) Clasificación Internacional de Patentes²: A61D

(74) Agente: ROSENBLUM, Anne, M.; 163 Delaware Avenue, Suite 212, Delmar, NY 12054 (US).

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/US02/29229 ✓

(22) Fecha de Registro Internacional: 13 de septiembre de 2002 (13.09.2002)

Estados Designados (nacional): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) Idioma de registro: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Información de Prioridad:
60/322,840 17 de septiembre de 2001 (17.09.2001) US
10/243,075 12 de septiembre de 2002 (12.09.2002) US

(84) Estados Designados (regional): Patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente Eurasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) Patente Europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), Patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Solicitante: WYETH [US/US]; Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940-0874 (US).

Declaraciones según la Regla 4.17:
- relativa al derecho del solicitante de solicitar y obtener una patente (Regla 4.17(ii)) para todas las designaciones
- relativa al derecho del solicitante de reivindicar la prioridad de la solicitud anterior (Regla 4.17(iii)) para todas las designaciones

(72) Inventor: CHU, Helen-Jue; 1506 13th Avenue North, Fort Dodge, IA 50501 (US)

Publicado:

- Sin reporte de Búsqueda Internacional y para ser republicado bajo el recibo de ese reporte

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, refiérase a "Las Notas Gúlas sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada emisión regular de la Gaceta PCT.

(54) Título: INTERLEUCINA-12 COMO ADYUVANTE DE VACUNA VETERINARIA

(57) Resumen: Esta invención describe una composición para incrementar la inmunogenicidad de una vacuna veterinaria que comprende una cantidad farmacológicamente efectiva de un inmunorregulador y un inmunoadyuvante. Además, la descripción describe una composición de vacuna que comprende una cantidad inmunizante efectiva de un antígeno, un inmunorregulador, un inmunoadyuvante y un portador farmacéuticamente aceptable. Las composiciones pueden contener opcionalmente adyuvantes convencionales secundarios o conservadores. La invención además describe un método único para intensificar o acelerar la inmunogenicidad de antígenos marginalmente seguros, inmunosupresores o débiles al administrarle a una especie aviar o de mamífero, una cantidad farmacológicamente efectiva de la composición intensificadora de la inmunogenicidad o una cantidad inmunizante efectiva de la composición de vacuna anteriormente mencionada.

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
27 March 2003 (27.03.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/024354 A2

- (51) International Patent Classification⁷: A61D
- (21) International Application Number: PCT/US02/29229
- (22) International Filing Date:
13 September 2002 (13.09.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/322,840 17 September 2001 (17.09.2001) US
10/243,075 12 September 2002 (12.09.2002) US

CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG,
SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC,
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK,
TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii)) for all designations
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii)) for all designations

Published:

- without international search report and to be republished upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

- (71) Applicant: WYETH [US/US]; Five Glaxo Farms, Madison, NJ 07940-0874 (US).
- (72) Inventor: CHU, Helen-Jae; 1506 13th Avenue North, Fort Dodge, IA 50501 (US).
- (74) Agent: ROSENBLUM, Anne, M.; 163 Delaware Avenue, Suite 212, Delmar, NY 12054 (US).
- (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,

(54) Title: INTERLEUKIN-12 AS A VETERINARY VACCINE ADJUVANT

(57) Abstract: This disclosure describes a composition for enhancing the immunogenicity of a veterinary vaccine that comprises a pharmacologically effective amount of an immunomodulator and an immunoadjuvant. Additionally, the disclosure describes a vaccine composition comprising an effective immunizing amount of an antigen, an immunomodulator, an immunoadjuvant and a pharmaceutically acceptable carrier. The compositions may optionally contain conventional, secondary adjuvants or preservatives. The disclosure further describes a unique method for enhancing or accelerating the immunogenicity of weak, immunosuppressive or marginally safe antigens by administering to an avian or mammalian species a pharmacologically effective amount of the aforesaid immunogenicity enhancing composition or an effective immunizing amount of the aforesaid vaccine composition.

WO 03/024354 A2

**CAPITULO REIVINDICATORIO COMO FUE
ORIGINALMENTE PRESENTADO EN FASE
INTERNACIONAL JUNTO CON SU
TRADUCCION**

REIVINDICACIONES

1. Una composición para intensificar la inmunogenicidad de una vacuna veterinaria, caracterizada porque comprende una cantidad farmacológicamente efectiva de un inmunorregulador y un inmunoadyuvante.

2. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque el inmunorregulador se selecciona a partir del grupo que comprende una citocina, un interferón, un factor de necrosis tumoral, un factor de transformación del crecimiento, un factor estimulador de colonias y una composición de los mismos.

3. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 2, caracterizada porque el inmunorregulador es una citocina.

4. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 3, caracterizada porque el inmunorregulador es interleucina-12.

5. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 4, caracterizada porque el inmunorregulador es una interleucina-12 homóloga de animal, recombinante de humano o recombinante de murino.

6. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 5, caracterizada porque

el inmunoadyuvante se selecciona a partir del grupo que comprende de saponina, un aceite metabolizable, un copolímero de bloque, un copolímero de etileno/maleico, un copolímero de ácido acrílico, una emulsión de copolímero de ácido acrílico, una emulsión de aceite mineral y una mezcla de los mismos.

7. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el inmunoadyuvante es saponina.

8. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el aceite metabolizable es escualeno o escualano.

9. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 8, caracterizada porque el aceite metabolizable es escualano.

10. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el copolímero de bloques es un copolímero de bloques de polioxipropileno-polioxi-etileno.

11. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el copolímero de etileno/maleico es un copolímero lineal de etileno/maleico anhidro con cantidades aproximadamente iguales de etileno/maleico anhidro de un peso molecular promedio ponderado de aproximadamente 75,000 a 100,000.

12. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el copolímero de ácido acrílico es una mezcla de estireno y un copolímero no coligado de ácido acrílico acuoso de ácido acrílico y ácido metacrílico.

13. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 12, caracterizada porque la mezcla se emulsiona.

14. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque la emulsión de aceite mineral es una emulsión de aceite en agua de aceite mineral de bajo peso molecular.

15. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el inmunoadyuvante es una mezcla de copolímero de bloques de polioxipropileno-polioxietileno y escualano.

16. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el inmunoadyuvante es una mezcla de copolímero lineal de etileno/maleico anhídrido, con cantidades aproximadamente iguales de etileno/maleico anhídrido y un peso molecular promedio ponderado de aproximadamente 75,000 a 100,000 y una emulsión de copolímero de ácido acrílico que comprende una mezcla emulsionada de estireno y un copolímero no coligado de ácido acrílico acuoso de ácido acrílico y ácido metacrílico.

17. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el inmunoadyuvante es una mezcla de copolímero lineal de etileno/maleico anhídrido, con cantidades aproximadamente iguales de etileno y maleico anhídrido y un peso molecular promedio ponderado de aproximadamente 75,000 a 100,000, una emulsión de copolímero de ácido acrílico que contiene una mezcla emulsionada de estireno y un copolímero no coligado de ácido acrílico acuoso de ácido acrílico y ácido metacrílico y una emulsión de aceite mineral.

18. Una composición mejorada de vacuna veterinaria caracterizada porque comprende una cantidad inmunizante efectiva de un antígeno, un inmunorregulador, un inmunoadyuvante y un portador farmacéuticamente aceptable.

19. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 18, caracterizada porque el inmunorregulador se selecciona a partir del grupo que comprende una citocina, un interferón, factor de necrosis tumoral, factor transformante de crecimiento, factor estimulante de colonias y una combinación de los mismos.

20. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 19, caracterizada porque el inmunorregulador es una citocina.

21. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 20, caracterizada porque el inmunorregulador

es interleucina-12.

22. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 21, caracterizada porque el inmunorregulador es una interleucina-12 homóloga de animal, recombinante de humano o recombinante de murino.

23. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 22, caracterizada porque el inmunoadyuvante se selecciona a partir del grupo que comprende una saponina, aceite metabolizable, copolímero de bloques, copolímero de etileno/maleico, un copolímero de ácido acrílico, una emulsión de copolímero de ácido acrílico, una emulsión de aceite mineral y mezclas de los mismos.

24. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el inmunoadyuvante es saponina.

25. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el aceite metabolizable es escualeno o escualano.

26. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 25, caracterizada porque el aceite metabolizable es escualano.

27. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el copolímero de bloques es copolímero de bloques de polioxipropileno-polioxietileno.

28. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el copolímero de etileno/maleico es un copolímero lineal de etileno/maleico anhidro con cantidades aproximadamente iguales de etileno y maleico anhidro y un peso molecular promedio ponderado de aproximadamente 75,000 a 100,000.

29. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el copolímero de ácido acrílico es una mezcla de estireno y un copolímero no coligado de ácido acrílico acuoso de ácido acrílico y ácido metacrílico.

30. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 29, caracterizada porque la mezcla se emulsiona.

31. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque la emulsión de aceite mineral es una emulsión de aceite en agua de aceite mineral de poca densidad.

32. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 27, caracterizada porque el inmunoadyuvante es una mezcla de copolímero de bloques de polioxipropileno-polioxietileno y un aceite metabolizable.

33. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 32, caracterizada porque el aceite metabolizable es escualano.

34. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el inmunoadyuvante es

una mezcla del copolímero de etileno/maleico anhídrido y una emulsión de copolímero de ácido acrílico.

35. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 34, caracterizada porque el inmunoadyuvante además comprende una emulsión de aceite mineral.

36. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el antígeno se selecciona a partir del grupo que comprende Virus Sincicial Respiratorio Bovino, virus herpes simplex tipo 1, virus de diarrea bovina, virus de parainfluenza-3, parvovirus canino, virus de parainfluenza canina, adenovirus canino tipo II, adenovirus canino, coronavirus canino, virus de la rabia, virus de inmunodeficiencia felina, virus de leucemia felina, coronavirus felino, Virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRS), virus de herpes aviar, *Chlamydia*, *Ehrlichia*, *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Mycoplasma*, *Borrelia*, *Leptospira*, *Coccidia*, *Hemosporidia*, *Amoebida*, *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Giardia*, *Histomonas*, *Coccidioides*, *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* y una combinación de los mismos.

37. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 36, caracterizada porque el antígeno es *Streptococcus equi* y el inmunoadyuvante es una saponina.

38. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 36, caracterizada porque el antígeno es el Virus Sincicial Respiratorio Bovino y el inmunoadyuvante es una mezcla del copolímero de bloques y el aceite metabolizable.

39. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 36, caracterizada porque el antígeno es *Ehrlichia canis* y el inmunoadyuvante es una mezcla del copolímero de etileno/ maleico y la emulsión de copolímero de ácido acrílico.

40. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 36, caracterizada porque el antígeno es una combinación de parvovirus canino, virus de parainfluenza canina, adenovirus canino tipo II, adenovirus canino, coronavirus canino, *Leptospira icterohemorrhagiae*, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa* y *Leptospira pomona* y el inmunoadyuvante es una mezcla del copolímero etileno/ maleico y la emulsión del copolímero de ácido acrílico.

41. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 36, caracterizada porque el antígeno es una combinación del virus de inmunodeficiencia felina y el virus de inmunodeficiencia felino y el inmunoadyuvante es una mezcla del copolímero de etileno/maleico, emulsión de copolímero de ácido acrílico y la emulsión de aceite mineral.

42. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 18, caracterizada porque además comprende un

conservador.

43. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 18, caracterizada porque además comprende un adyuvante secundario.

44. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 43, caracterizada porque el adyuvante secundario se selecciona a partir del grupo que comprende un estabilizador, un emulsionante, hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio, un regulador del pH, un tensioactivo, una liposoma, un adyuvante Iscom, un glicopéptido sintético, una carga, carboxipolimetileno, pared celular bacteriana, un derivado de pared celular bacteriana, vacuna, proteína de virus de sarampión, adyuvante de partícula subviral, toxina colérica, N,N-dioctadecil-N',N'-bis(2-hidroxietil)propandiamina, lípido A de monofosforilo, de dimetildioctadecil- bromuro de amonio y mezclas los mismos.

45. Un método para potencializar, acelerar o ampliar la inmunogenicidad de un antígeno marginalmente seguro, inmunosupresor y débil caracterizado por la administración a una especie aviar o de mamífero de una cantidad farmacológicamente efectiva de la composición intensificadora de la inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 1, antes, concomitantemente o secuencialmente con o después de la administración de un antígeno marginalmente seguro, inmunosupresor o débil.

46. Un método para potencializar, acelerar o ampliar la inmunogenicidad de un antígeno morfológicamente seguro, inmunosupresor o débil caracterizado por la administración a una especie aviar o de mamífero de una cantidad inmunizante efectiva de la composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 18.

47. El método de conformidad con la reivindicación 45 ó 46, caracterizado por la administración de una composición de vacuna o intensificador de la inmunogenicidad de manera subcutánea, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, intranasal, intrabucal, transdérmica u oral.

48. El método de conformidad con la reivindicación 45 ó 46, caracterizado por la administración de una composición de vacuna o intensificador de la inmunogenicidad que contiene un inmunorregulador seleccionado a partir del grupo que comprende una citocina, un interferón, un factor de necrosis tumoral, un factor transformante del crecimiento, un factor estimulante de colonias o una combinación de colonias.

49. Un método de conformidad con la reivindicación 48, caracterizado por la administración de una composición de vacuna o intensificador de la inmunogenicidad que contiene la citocina que comprende la interleucina-12 de un animal homólogo, humano recombinante o murino recombinante.

50. Un método de conformidad con la reivindicación 49, caracterizado por la administración de una composición de

vacuna o intensificador de la inmunogenicidad que contiene el inmunoadyuvante seleccionado a partir del grupo que comprende una saponina, un aceite metabolizable, un copolímero de bloques, un copolímero de etileno/maleico, un copolímero de ácido acrílico, una emulsión de copolímero de ácido acrílico, una emulsión de aceite mineral y mezclas de los mismos.

51. El método de conformidad con la reivindicación 50, caracterizado por la administración de una composición de vacuna que contiene un antígeno que se selecciona a partir del grupo que comprende Virus Sincicial Respiratorio Bovino, virus herpes simplex tipo 1, virus de diarrea bovina, virus de parainfluenza-3, parvovirus canino, virus de parainfluenza canina, adenovirus canino tipo II, adenovirus canino, coronavirus canino, virus de la rabia, virus de inmunodeficiencia felina, virus de leucemia felina, coronavirus felino, Virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRS), virus de herpes aviar, *Chlamydia*, *Ehrlichia*, *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Mycoplasma*, *Borrelia*, *Leptospira*, *Coccidia*, *Hemosporidia*, *Amoebida*, *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Giardia*, *Histomonas*, *Coccidioides*, *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* y una combinación de los mismos.

CLAIMS

I Claim:

- 5 1. A composition for enhancing the immunogenicity of a veterinary vaccine, characterized by comprising a pharmacologically effective amount of an immunomodulator and an immunoadjuvant.
2. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 1, characterized in that the immunomodulator is selected from the group consisting of a
10 cytokine, an interferon, tumor necrosis factor, transforming growth factor, colony stimulating factor and a combination thereof.
3. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 2, characterized in that the immunomodulator is a cytokine.
4. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 3,
15 characterized in that the immunomodulator is interleukin-12.
5. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 4, characterized in that the immunomodulator is a homologous animal, recombinant human or recombinant murine interleukin-12.
6. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 5,
20 characterized in that the immunoadjuvant is selected from the group consisting of a saponin, a metabolizable oil, a block copolymer, an ethylene/maleic copolymer, an acrylic acid copolymer, an acrylic acid copolymer emulsion, a mineral oil emulsion and a mixture thereof.
7. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 6,
25 characterized in that the immunoadjuvant is saponin.
8. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 6, characterized in that the metabolizable oil is squalene or squalane.
9. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 8, characterized in that the metabolizable oil is squalane.

10. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 6, characterized in that the block copolymer is a polyoxypropylene-polyoxyethylene block copolymer.

5 11. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 6, characterized in that the ethylene/maleic copolymer is a linear ethylene/maleic anhydride copolymer having approximately equal amounts of ethylene and maleic anhydride and an estimated average molecular weight of about 75,000 to 100,000.

10 12. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 6, characterized in that the acrylic acid copolymer is a mixture of styrene and an uncoalesced aqueous acrylic acid copolymer of acrylic acid and methacrylic acid.

13. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 12, characterized in that the mixture is emulsified.

15 14. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 6, characterized in that the mineral oil emulsion is an oil-in-water emulsion of light mineral oil.

15. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 6, characterized in that the immunoadjuvant is a mixture of a polyoxypropylene-polyoxyethylene block copolymer and squalane.

20 16. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 6, characterized in that the immunoadjuvant is a mixture of a linear ethylene/maleic anhydride copolymer, having approximately equal amounts of ethylene and maleic anhydride and an estimated average molecular weight of about 75,000 to 100,000, and an acrylic acid copolymer emulsion comprising an emulsified mixture of styrene and an uncoalesced aqueous acrylic acid copolymer of acrylic acid and methacrylic acid.

25 17. The immunogenicity enhancing composition according to Claim 6, characterized in that the immunoadjuvant is a mixture of a linear ethylene/maleic anhydride copolymer, having approximately equal amounts of ethylene and maleic anhydride and an estimated average molecular weight of about 75,000 to 100,000, an acrylic acid copolymer emulsion comprising an emulsified mixture of styrene and an uncoalesced

aqueous acrylic acid copolymer of acrylic acid and methacrylic acid, and a mineral oil emulsion.

18. An improved veterinary vaccine composition characterized by comprising an effective immunizing amount of an antigen, an immunomodulator, an immunoadjuvant and a pharmaceutically acceptable carrier.

19. The vaccine composition according to Claim 18, characterized in that the immunomodulator is selected from the group consisting of a cytokine, an interferon, tumor necrosis factor, transforming growth factor, colony stimulating factor and a combination thereof.

20. The vaccine composition according to Claim 19, characterized in that the immunomodulator is a cytokine.

21. The vaccine composition according to Claim 20, characterized in that the immunomodulator is interleukin-12.

22. The vaccine composition according to Claim 21, characterized in that the immunomodulator is a homologous animal, recombinant human or recombinant murine interleukin-12.

23. The vaccine composition according to Claim 22, characterized in that the immunoadjuvant is selected from the group consisting of a saponin, a metabolizable oil, a block copolymer, an ethylene/maleic copolymer, an acrylic acid copolymer, an acrylic acid copolymer emulsion, a mineral oil emulsion and a mixture thereof.

24. The vaccine composition according to Claim 23, characterized in that the immunoadjuvant is saponin.

25. The vaccine composition according to Claim 23, characterized in that the metabolizable oil is squalene or squalane.

26. The vaccine composition according to Claim 25, characterized in that the metabolizable oil is squalane.

27. The vaccine composition according to Claim 23, characterized in that the block copolymer is a polyoxypropylene-polyoxyethylene block copolymer.

28. The vaccine composition according to Claim 23, characterized in that the ethylene/maleic copolymer is a linear ethylene/maleic anhydride copolymer having approximately equal amounts of ethylene and maleic anhydride and an estimated average molecular weight of about 75,000 to 100,000.

5 29. The vaccine composition according to Claim 23, characterized in that the acrylic acid copolymer is a mixture of styrene and an uncoalesced aqueous acrylic acid copolymer of acrylic acid and methacrylic acid.

30. The vaccine composition according to Claim 29, characterized in that the mixture is emulsified.

10 31. The vaccine composition according to Claim 23, characterized in that the mineral oil emulsion is an oil-in-water emulsion of light mineral oil.

32. The vaccine composition according to Claim 27, characterized in that the immunoadjuvant is a mixture of the polyoxypropylene-polyoxyethylene block copolymer and a metabolizable oil.

15 33. The vaccine composition according to Claim 32, characterized in that the metabolizable oil is squalane.

34. The vaccine composition according to Claim 23, characterized in that the immunoadjuvant is a mixture of the ethylene/maleic anhydride copolymer and an acrylic acid copolymer emulsion.

20 35. The vaccine composition according to Claim 34, characterized in that the immunoadjuvant further comprises a mineral oil emulsion.

36. The vaccine composition according to Claim 23, characterized in that the antigen is selected from the group consisting of Bovine Respiratory Syncytial Virus, herpes simplex virus type 1, bovine virus diarrhea, parainfluenza-3 virus, canine parvovirus, canine parainfluenza virus, canine adenovirus type II, canine adenovirus, canine coronavirus, rabies virus, feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus, feline coronavirus, Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) Virus, chicken herpes virus, *Chlamydia*, *Ehrlichia*, *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Mycoplasma*, *Borrelia*, *Leptospira*, *Coccidia*,

25

Hemosporidia, Amoebida, Trypanosoma, Leishmania, Giardia, Histomonas, Coccidioides, Histoplasma, Blastomyces, Aspergillus, Cryptococcus and a combination thereof.

5 37. The vaccine composition according to Claim 36, characterized in that the antigen is *Streptococcus equi* and the immunoadjuvant is a saponin.

38. The vaccine composition according to Claim 36, characterized in that the antigen is Bovine Respiratory Syncytial Virus and the immunoadjuvant is a mixture of the block copolymer and the metabolizable oil.

10 39. The vaccine composition according to Claim 36, characterized in that the antigen is *Ehrlichia canis* and the immunoadjuvant is a mixture of the ethylene/maleic copolymer and the acrylic acid copolymer emulsion.

40. The vaccine composition according to Claim 36, characterized in that the antigen is a combination of canine parvovirus, canine parainfluenza virus, canine adenovirus type II, canine adenovirus, canine coronavirus, *Leptospira*
15 *icterohemorrhagiae, Leptospira canicola, Leptospira grippotyphosa* and *Leptospira pomona*, and the immunoadjuvant is a mixture of the ethylene/maleic copolymer and the acrylic acid copolymer emulsion.

41. The vaccine composition according to Claim 36, characterized in that the antigen is a combination of feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus, and
20 the immunoadjuvant is a mixture of the ethylene/maleic copolymer, the acrylic acid copolymer emulsion and the mineral oil emulsion.

42. The vaccine composition according to Claim 18, characterized by further comprising a preservative.

43. The vaccine composition according to Claim 18, characterized by further
25 comprising a secondary adjuvant.

44. The vaccine composition according to Claim 43, characterized in that the secondary adjuvant is selected from the group consisting of a stabilizer, an emulsifier, aluminum hydroxide, aluminum phosphate, a pH adjuster, a surfactant, a liposome, an iscom adjuvant, a synthetic glycopeptide, an extender, carboxypolymethylene, bacterial

cell wall, a derivative of a bacterial cell wall, vaccinia, an animal poxvirus protein, a subviral particle adjuvant, cholera toxin, N,N-dioctadecyl-N',N'-bis(2-hydroxyethyl)propanediamine, monophosphoryl lipid A, dimethyldioctadecyl-ammonium bromide and a mixture thereof.

5 45. A method for potentiating, accelerating or extending the immunogenicity of a weak, immunosuppressive or marginally safe antigen characterized by administering to an avian or mammalian species a pharmacologically effective amount of the immunogenicity enhancing composition according to Claim 1 before, concurrently with, sequentially with or after the administration of the weak, immunosuppressive or marginally
10 safe antigen.

 46. A method for potentiating, accelerating or extending the immunogenicity of a weak, immunosuppressive or marginally safe antigen characterized by administering to an avian or mammalian species an effective immunizing amount of the vaccine composition according to Claim 18.

15 47. The method according to Claim 45 or 46, characterized by administering the immunogenicity enhancing or vaccine composition subcutaneously, intramuscularly, intradermally, intraperitoneally, intranasally, intrabuccally, transdermally or orally.

 48. The method according to Claim 45 or 46, characterized by administering the immunogenicity enhancing or vaccine composition which contains an
20 immunomodulator selected from the group consisting of a cytokine, an interferon, tumor necrosis factor, transforming growth factor, colony stimulating factor and a combination thereof.

 49. The method according to Claim 48, characterized by administering the immunogenicity enhancing or vaccine composition which contains the cytokine comprising
25 a homologous animal, recombinant human or recombinant murine interleukin-12.

 50. The method according to Claim 49, characterized by administering the immunogenicity enhancing or vaccine composition which contains the immunoadjuvant selected from the group consisting of a saponin, a metabolizable oil, a block copolymer, an ethylene/maleic copolymer, an acrylic acid copolymer, an acrylic acid copolymer emulsion,

a mineral oil emulsion and a mixture thereof.

51. The method according to Claim 50, characterized by administering the vaccine composition which contains an antigen selected from the group consisting of Bovine Respiratory Syncytial Virus, herpes simplex virus type 1, bovine virus diarrhea, parainfluenza-3 virus, canine parvovirus, canine parainfluenza virus, canine adenovirus type II, canine adenovirus, canine coronavirus, rabies virus, feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus, feline coronavirus, Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) Virus, chicken herpes virus, *Chlamydia*, *Ehrlichia*, *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Mycoplasma*, *Borrelia*, *Leptospira*, *Coccidia*, *Hemosporidia*, *Amoebida*, *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Giardia*, *Histomonas*, *Coccidioides*, *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* and a combination thereof.

Para: ANNE M. ROSEBLUM ATTORNEY-AT-LAW 163 DELAWARE AVENUE SUITE 212 DELMAR, NY 12054		OPINION ESCRITA (PCT Regla 66)	
Registro de referencia del solicitante o agente AM100124		Fecha de envío (día/mes/año) 23 de diciembre de 2003	
		RESPUESTA VENCE Dentro de 1 meses/días desde la fecha anterior de envío	
Solicitud Internacional No. PCT/US02/29229	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 13 de septiembre de 2002 (13.09.2002)	Fecha de prioridad (día/mes/año) 17 de septiembre de 2001 (17.09.2001)	
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC IPC(7): A 61K 38/19, 38/20, 38/21 y US CL.:514/2, 8, 12; 424/85.1, 85.2, 85.4, 184.1, 198.1, 278.1			
Solicitante WYETH			
1. Esta opinión escrita la redacta <u>primero</u> (primero, etc.) la Autoridad Examinadora Preliminar Internacional. 2. Esta opinión contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems: I ☒ Bases de opinión II ☐ Prioridad III ☐ No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad Industrial. IV ☐ Falta de unidad de invención V ☒ declaración razonada de según la regla 66.2(a)(ii) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación. VI ☐ Ciertos documentos citados VII ☐ Ciertos defectos en la solicitud internacional VIII ☐ Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional 3. El solicitante por el presente está invitado a contestar a esta opinión. ¿Cuándo? Ver el límite de tiempo indicado anteriormente. El solicitante puede, antes de la expiración del límite de tiempo, solicitar a esta Autoridad que otorgue una extensión, ver Regla 66.2(i). ¿Cómo? Presentando una respuesta escrita, acompañada de, cuando sea apropiado, de enmiendas, según Regla 66.3. Para el formulario y el idioma de las enmiendas, ver las Reglas 66.8 y 66.9 También Para una oportunidad adicional de presentar enmiendas, ver Regla 66.4. Para la obligación del examinador de considerar las enmiendas y/o argumentos, ver Norma 66.4bis. Para una comunicación informal con el examinador, ver Regla 66.6. Si no se registra una respuesta, el informe del examen preliminar internacional se establecerá según esta opinión. 4. La fecha final por medio de la cual se debe establecer el reporte del examen preliminar internacional según la Regla 69.2 es: 17 de enero de 2004(17.01.2004)			
Nombre y dirección de correo de IPEA/US Mail Stop PCT.Attn:IPEA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsímil No. (703) 305-3230		Funcionario autorizado Prena M Mertz Teléfono No. (703) 308-0196	

OPINIÓN ESCRITA	Solicitud internacional No. PCT/US02/29229
Casilla Suplementaria (Para ser usada cuando el espacio en cualquier cuadro anterior no sea suficiente)	
TIEMPO LIMITE: El límite de tiempo expuesto para responder a una Opinión Escrita no puede ser extendido. 37 CFR 1.484(d). Cualquier respuesta recibida después de la expiración del límite de tiempo expuesto en la Opinión Escrita no será considerada en la preparación del Reporte de Examen Preliminar Internacional.	

PATENT COOPERATION TREATY

40

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITYTo:
ANNE M. ROSEBLUM
ATTORNEY - AT - LAW
163 DELAWARE AVENUE
SUITE 212
DELMAR, NY 12034

PCT

WRITTEN OPINION

(PCT Rule 66)

Applicant's or agent's file reference AM100124		Date of Mailing (day/month/year) 23 DEC 2003
International application No. PCT/US02/25229		REPLY DUE within 1 month/days from the above date of mailing
International filing date (day/month/year) 13 September 2002 (13.09.2002)	Priority date (day/month/year) 17 September 2001 (17.09.2001)	
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC IPC(7): A61K 38/19, 38/20, 38/21 and US Cl.: 514/2, 8, 12; 424/85.1, 85.2, 85.4, 184.1, 198.1, 278.1		
Applicant WYETH		

1. This written opinion is the first (first, etc.) drawn by this International Preliminary Examining Authority.
2. This opinion contains indications relating to the following items:
 - I ☒ Basis of the opinion
 - II ☐ Priority
 - III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
 - IV ☐ Lack of unity of invention
 - V ☒ Reasoned statement under Rule 66.2 (a)(ii) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
 - VI ☐ Certain documents cited
 - VII ☐ Certain defects in the international application
 - VIII ☐ Certain observations on the international application
3. The applicant is hereby invited to reply to this opinion.

When? See the time limit indicated above. The applicant may, before the expiration of that time limit, request this Authority to grant an extension. See rule 66.3(d).

How? By submitting a written reply, accompanied, where appropriate, by amendments, according to Rule 66.3. For the form and the language of the amendments, see Rules 66.8 and 66.9.

Also For an additional opportunity to submit amendments, see Rule 66.4.
For the examiner's obligation to consider amendments and/or arguments, see Rule 66.4 (ii).
For an informal communication with the examiner, see Rule 66.6

If no reply is filed, the international preliminary examination report will be established on the basis of this opinion.
4. The final date by which the international preliminary examination report must be established according to Rule 69.2 is: 17 January 2004 (17.01.2004).

Name and mailing address of the IPEA/US Mail Stop PCT, Attn: IPEA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 305-3230	Authorized officer Prerna M Mertz Telephone No. (703) 308-0196
---	--

Form PCT/IPEA408 (cover sheet) (July 1998)

6

43

WRITTEN OPINION

International application No.
PCT/US92/29229

V. Reasoned statement under Rule 66.2(a)(ii) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. STATEMENT

Novelty (N)	Claims 7-17, 24-41, 51	YES
	Claims 1-6, 18-23, 42-50	NO
Inventive Step (IS)	Claims 7-17, 24-35, 37-41	YES
	Claims 36, 51	NO
Industrial Applicability (IA)	Claims 1-51	YES
	Claims NONE	NO

2. CITATIONS AND EXPLANATIONS

Claims 1-6, 18-23, 42-50 lack novelty under PCT Article 33(2) as being anticipated by Jankovic et al. (1997). The reference teaches a composition for enhancing the immunogenicity of a veterinary vaccine comprising IL-12 as the immunomodulator and an immunoadjuvant (see pages 2409-2417, especially abstract and page 2414).

Claims 36, 51 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Jankovic et al. (1997). The teachings of the reference have been set forth above. However, the reference fails to recite the specific antigens as recited in claims 36 and 51.

It would have been prima facie obvious to one of skill in the art at the time the instant invention was made to select an antigen from the various antigens as recited in claims 36 and 51 because the reference teaches that the IL-12 vaccination protocol may have general applicability in boosting responses to weakly immunogenic protein antigens with an expectation of success.

Claims 1-51 meet the criteria set out in PCT Article 33(4), and thus meet industrial applicability because the subject matter claimed can be made or used in the medical industry.

NEW CITATIONS

42

WRITTEN OPINION

International application No.
PCT/US22/23229

Supplemental Box
(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

TIME LIMIT:

The time limit set for response to a Written Opinion may not be extended. 37 CFR 1.484(d). Any response received after the expiration of the time limit set in the Written Opinion will not be considered in preparing the International Preliminary Examination Report.

8

45

PATENT COOPERATION TREATY

43

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT
OF DEMAND BY COMPETENT INTERNATIONAL
PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY(PCT Rules 59.3(e) and 61.1(b), first sentence
and Administrative Instructions, Section 601(a))

To:

ANNE M. ROSEBLUM
ATTORNEY - AT - LAW
163 DELAWARE AVENUE
SUITE 212
DELMAR, NEW YORK 12054Date of mailing
(day/month/year)

02 SEP 2003

Applicant's or agent's file reference

AM100124

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/US02/29229

International filing date (day/month/year)

13 Sep 2002

Priority date (day/month/year)

17 Sep 2001

Applicant

WYETH

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority considers the following date as the date of receipt of the demand for international preliminary examination of the international application:

17.04.03
17 April 2003

2. That date of receipt is:



the actual date of receipt of the demand by this Authority (Rule 61.1(b)).



the actual date of receipt of the demand on behalf of this Authority (Rule 59.3(e)).



the date on which this Authority has, in response to the invitation to correct defects in the demand (Form PCT/IPEA/404), received the required corrections.

3. ☐ **ATTENTION:** That date of receipt is **AFTER** the expiration of 19 months from the priority date. Consequently, the election(s) made in the demand does (do) not have the effect of postponing the entry into the national phase until 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)). Therefore, the acts for entry into the national phase must be performed within 20 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 22). For details, see the *PCT Applicant's Guide, Volume II*.



(If applicable) This notification confirms the information given by telephone, facsimile transmission or in person on:

4. Only where paragraph 3 applies, a copy of this notification has been sent to the International Bureau.

Name and mailing address of the IPEA/
Mail Stop PCT, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450

Authorized officer

Annette Short

Facsimile No. 703-305-3230

Telephone No. 703-305-3628

Form PCT/IPEA/402 (July 1998)

46

The demand must be filed directly with the competent International Preliminary Examining Authority or, if two or more Authorities are competent, with the one chosen by the applicant. The full name or two-letter code of that Authority may be indicated by the applicant on the line below:

IPEA/ US

PCT

CHAPTER II

DEMAND

under Article 31 of the Patent Cooperation Treaty.
The undersigned requests that the international application specified below be the subject of international preliminary examination according to the Patent Cooperation Treaty and hereby elects all eligible States (except where otherwise indicated).

For International Preliminary Examining Authority use only		
Identification of IPEA		Date of receipt of DEMAND
Box No. I IDENTIFICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION		Applicant's or agent's file reference AM100124
International application No. PCT/US02/29229	International filing date (day/month/year) 13 September 2002 (13/09/02)	(Earliest) Priority date (day/month/year) 17 September 2001 (17/09/01)
Title of invention INTERLEUKIN-12 AS A VETERINARY VACCINE ADJUVANT		
Box No. II APPLICANT(S)		
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.) WYETH Five Girakda Farms Madison, NJ 07940-0874 US		Telephone No. 973-683-2153
		Fax/Telex No. 973-683-2109
		Teleprinter No.
		Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality: US		State (that is, country) of residence: US
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)		
State (that is, country) of nationality:		State (that is, country) of residence:
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)		
State (that is, country) of nationality:		State (that is, country) of residence:
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)		
State (that is, country) of nationality:		State (that is, country) of residence:
☐ Further applicants are indicated on a continuation sheet.		

Box No. III AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The following person is ☒ agent ☐ common representative
and ☒ has been appointed earlier and represents the applicant(s) also for international preliminary examination.
☐ is hereby appointed and any earlier appointment of (an) agent(s)/common representative is hereby revoked.
☐ is hereby appointed, specifically for the procedure before the International Preliminary Examining Authority, in addition to the agent(s)/common representative appointed earlier.

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. (The address must include postal code and name of country). ROSENBLUM, Anne M. Attorney-at-Law 163 Delaware Avenue - Suite 212 Delmar, NY 12054 US	Telephone No. 518-475-0811
	Facsimile No. 518-475-0819
	Teleprinter No.
	Agent's registration No. with the Office 30,419

☐ Address for correspondence: Mark this check-box where an agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Box No. IV BASIS FOR INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION

Statement concerning amendments:

1. The applicant wishes the international preliminary examination to start on the basis of:
☒ the international application as originally filed
the description ☒ as originally filed ☐ as amended under Article 34
the claims ☒ as originally filed ☐ as amended under Article 19 (together with any accompanying statement) ☐ as amended under Article 34
the drawings ☐ as originally filed ☐ as amended under Article 34

2. ☐ The applicant wishes any amendment to the claims under Article 19 to be considered as reversed.

3. ☐ The applicant wishes the start of the international preliminary examination to be postponed until the expiration of 20 months from the priority date unless the International Preliminary Examining Authority receives a copy of any amendments made under Article 19 or a notice from the applicant that he does not wish to make such amendments (Rule 69.1(d)). (This check-box may be marked only where the time limit under Article 19 has not yet expired.)

* Where no check-box is marked, international preliminary examination will start on the basis of the international application as originally filed or, where a copy of amendments to the claims under Article 19 and/or amendments of the international application under Article 34 are received by the International Preliminary Examining Authority before it has begun to draw up a written opinion or the international preliminary examination report, as so amended.

Language for the purposes of international preliminary examination: English
☒ which is the language in which the international application was filed.
☐ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search.
☒ which is the language of publication of the international application.
☐ which is the language of the translation (to be) furnished for the purposes of international preliminary examination.

Box No. V ELECTION OF STATES

The applicant hereby elects all eligible States (that is, all States which have been designated and which are bound by Chapter II of the PCT)
excluding the following States which the applicant wishes not to elect:

Box No. VI CHECK LIST

The demand is accompanied by the following elements, in the language referred to in Box No. IV, for the purposes of international preliminary examination:

- | | | |
|--|---|----------|
| 1. translation of international application | : | sheets |
| 2. amendments under Article 34 | : | sheets |
| 3. copy (or, where required, translation) of amendments under Article 19 | : | sheets |
| 4. copy (or, where required, translation) of statement under Article 19 | : | sheets |
| 5. letter | : | 1 sheets |
| 6. other (specify) | : | sheets |

For International Preliminary Examining Authority use only

received not received

- | | |
|-------------------------------------|--------------------------|
| ☐ | ☐ |
| ☒ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |

The demand is also accompanied by the item(s) marked below:

- | | |
|--|---|
| 1. ☒ fee calculation sheet | 5. ☐ statement explaining lack of signature |
| 2. ☐ original separate power of attorney | 6. ☐ sequence listings in computer readable form |
| 3. ☐ original general power of attorney | 7. ☐ tables in computer readable form related to sequence listings |
| 4. ☐ copy of general power of attorney, reference number, if any: | 8. ☐ other (specify): |

Box No. VII SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the demand).

Anne M. Rosenblum

Anne M. Rosenblum, Esq.
Registration No. 30,419

For International Preliminary Examining Authority use only

1. Date of actual receipt of DEMAND:

2. Adjusted date of receipt of demand due to CORRECTIONS under Rule 60.1(b):

- | | |
|--|---|
| 3. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of 19 months from the priority date and item 4 or 5, below, does not apply. | ☐ The applicant has been informed accordingly. |
| 4. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the period of 19 months from the priority date as extended by virtue of Rule 80.5. | |
| 5. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of 19 months from the priority date, the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82. | |

For International Bureau use only

Demand received from IPEA on:

ANEXO EXPLICATIVO DE MODIFICACIONES A LAS REIVINDICACIONES

En ejercicio del derecho conferido por el Artículo 28 numeral 1 del Tratado de Cooperación en materia de Patentes PCT, atentamente me permito Informar a ese Despacho que el capítulo reivindicatorio tal como fue presentado originalmente en Fase Internacional ha sido modificado.

Las modificaciones realizadas se encuentran plenamente sustentadas en la descripción de la presente Invención y en este sentido, no configuran una ampliación del invento o de la divulgación contenida en la solicitud presentada.

INTERLEUCINA-12 COMO ADYUVANTE DE VACUNA VETERINARIA**RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION**

Esta invención describe una composición para incrementar la inmunogenicidad de una vacuna veterinaria que comprende una cantidad farmacológicamente efectiva de un inmunorregulador y un inmunoadyuvante. Además, la descripción describe una composición de vacuna que comprende una cantidad inmunizante efectiva de un antígeno, un inmunorregulador, un inmunoadyuvante y un portador farmacéuticamente aceptable. Las composiciones pueden contener opcionalmente adyuvantes convencionales secundarios o conservadores. La invención además describe un método único para intensificar o acelerar la inmunogenicidad de antígenos marginalmente seguros, inmunosupresores o débiles al administrarle a una especie aviar o de mamífero, una cantidad farmacológicamente efectiva de la composición intensificadora de la inmunogenicidad o una cantidad inmunizante efectiva de la composición de vacuna anteriormente mencionada.

INTERLEUCINA-12 COMO ADYUVANTE DE VACUNA VETERINARIA**REFERENCIA CRUZADA PARA SOLICITUDES NORTEAMERICANAS
RELACIONADAS**

Esta solicitud reclama los beneficios de acuerdo al 35 U.S.C. § 119 (e) de la Solicitud Provisional de Estados Unidos. No. 60/322,840, presentada el 17 septiembre del 2001. La solicitud previa es incorporada aquí por referencia en su totalidad.

**DECLARACIÓN CON RESPECTO A LA BÚSQUEDA O DESARROLLO
FEDERALMENTE PATROCINADO**

No aplica

REFERENCIA PARA UN "LISTADO DE SECUENCIAS"

No aplica

ANTECEDENTES DE LA INVENCION**Campo de la Invención**

La presente invención concierne a una combinación novedosa que comprende un inmunorregulador en combinación con inmunoadyuvantes que intensifican la inmunogenicidad o eficacia fisiológica de vacunas veterinarias que contienen un antígeno y el nuevo uso de la combinación para mejorar significativamente la respuesta inmunológica de un animal al antígeno cuando se le administra concomitantemente o en mezcla con una composición de vacuna.

Descripción de la técnica relacionada

Todas las patentes y publicaciones citadas en esta especificación se incorporan por referencia y en su totalidad.

La etiología de varias enfermedades debilitantes o fatales se ha establecido. Por ejemplo, el Virus Sincicial Respiratorio Bovino (de aquí en adelante referido como "BRSV") es reconocido como un factor significativo en el Complejo de Enfermedad Respiratoria Bovina. La enfermedad se caracteriza por respiración agitada, tos, pérdida de apetito, descarga ocular, y nasal así como elevada temperatura en el ganado. La muerte puede ocurrir dentro de un período de 48 horas después de la manifestación de los síntomas en un brote agudo. El BRSV se considera el patógeno viral más común en la neumonía enzoótica en becerros y también ha sido asociado con enfisema pulmonar en becerros recién destetados.

Otra enfermedad de grandes animales, paperas es causada por una infección bacteriana de *Streptococcus equi*. También se conoce como moquillo equino o adenitis equina, las paperas es una enfermedad muy contagiosa del tracto respiratorio superior del caballo caracterizada por la presencia de abscesos locales y diseminados.

Se conocen una variedad de agentes etiológicos que causan enfermedad en pequeños animales. La enfermedad en perros, por ejemplo, está asociada con la presencia de

Ehrlichia canis, parvovirus canino (CPV), virus de para influenza canina (CPI), adenovirus canino tipo II (CAV-2), adenovirus canino (CDV), coronavirus canino (CCV), *Leptospira icterohemorrhagiae* (LI), *Leptospira canicola* (LC), *Leptospira grippotyphosa* (LG), *Leptospira pomona* (LP) y lo similar. Igualmente, la enfermedad en gatos es causada por virus transmisibles como el virus de la inmunodeficiencia felina y virus de leucemia felina entre otros, y bacterias como *Chlamydia psittaci* felina, etc.

Se necesita verdaderamente una profilaxis efectiva contra estos tipos de agentes etiológicos que producen enfermedades muy contagiosas, debilitantes y mortales en los animales. Sin embargo, comúnmente las vacunas veterinarias sufren de bajas respuestas de inmunogenicidad debido a las débiles actividades antigénicas de ciertos agentes etiológicos o debido a variaciones biológicas entre una especie de animal y otra. La menor eficacia fisiológica también es un problema en cualquier intento de obtener respuestas inmunitarias humorales apropiadas en los animales. Es difícil lograr la producción de un nivel adecuado de anticuerpos séricos, que reflejen una verdadera protección contra la enfermedad mediante una inmunidad concomitante mediada por células. Más aún, las compatibilidades físicas y químicas de las sustancias antigénicas con cada aditivo o combinación de aditivos deberán resolverse mediante análisis

significativos para impedir hacer inactivos a los antígenos sensibles. Los efectos secundarios problemáticos o toxicidad potencial a partir de un estrecho margen de seguridad proporcionan incluso otro desafío para el desarrollo de un programa útil de vacunación veterinaria. El establecimiento de inmunidad protectora no es cosa fácil. Por lo tanto, la investigación se ha enfocado en el descubrimiento de un adyuvante confiable y no tóxico que sea compatible con el antígeno y capaz de mejorar la inmunogenicidad y eficacia de las vacunas para animales sin causar preocupaciones de toxicidad.

Se han desarrollado cierta cantidad de inmunoadyuvantes que pueden mostrar habilidades prometedoras para aumentar las respuestas inmunitarias humorales mediadas por células a una variedad de antígenos que sufren de una débil inmunogenicidad (ver argumento en R. Rabinovich, "Vaccine Technologies: View to the Future," *Science* 265: 1401-1404 (2 de septiembre de 1994) y F. Audibert, "Adjuvants: current status, clinical perspectives and future prospects," *Immunology Today* 14(6): 281-284 (1993)). El alumbre (sulfato aluminico-potásico), encontrado en vacunas contra difteria, tétanos y hepatitis B, estimula la respuesta inmunitaria humoral pero no la inmunidad mediada por células. Como resultado, la sal no es eficaz con todos los inmunógenos. Las sales de aluminio también tienen la desventaja de no prestarse ellas mismas o

para las vacunas a liofilización o congelamiento. Debido a las limitaciones de las sales de aluminio, la investigación se ha dirigido a varios inmunoadyuvantes alternativos como las saponinas, tensioactivos no iónicos de polímero de bloques, lípido A de monofosforilo, citocinas, tripéptidos o dipéptidos de muramilo (aceite de escualeno). Sin embargo, la selección de un sistema adecuado de inmunoadyuvante no es cuestión fácil y requiere de experimentación sustancial para descubrir si el sistema intensificará las respuestas inmunitarias humorales y mediadas por células en una especie particular de animal para diferentes inmunógenos. El mantenimiento de la estabilidad y eficacia de los inmunógenos son otros factores importantes que pueden influir sobre el proceso de selección para saber si el sistema de inmunoadyuvante funcionará con el animal según se desea.

La interleucina-1 (IL-1) fue la primer citocina que se descubrió útil como adyuvante para amplificar la respuesta secundaria de anticuerpos a la albúmina sérica de bovino mediante una inmunidad mediada por células por medio del incremento de la producción de interleucina-2 (IL-2). Los estudios previos han demostrado que la IL-1 bovina recombinante es útil como un inmunorregulador de las respuestas inmunitarias de bovino con respecto a las infecciones virales (ver Reddy et al., "Adjuvanicity of recombinant bovine interleukin-1 ; influence on immunity,

infection and latency in bovine herpes virus-1 infection, "Lymphokine Res. 9: 295-300 (1990)). En estos estudios, el tratamiento de becerros con r-BoIL-1 β incrementó la producción de anticuerpos contra herpes virus-1 de bovino (BHV-1), virus de la diarrea bovina (BVD) y virus de parainfluenza-3 (PI-3), intensificó las respuestas citotóxicas para las células MDBK viralmente infectadas, disminuyó la multiplicación viral del BHV-1 después del desafío y tuvo una menor recrudescencia de BHV-1 después de las inyecciones con dexametasona. Los informes sugieren que la interleucina-1 β bovina recombinante puede potencializar la actividad de antígenos cuando se administra subcutáneamente en solución acuosa.

Los estudios clínicos se han llevado a cabo para evaluar la habilidad de las citocinas como interferón α (IFN- α) e interferón γ (IFN- γ) para mejorar la inmunogenicidad de las vacunas contra hepatitis B en sujetos no responsivos.

La subsecuente investigación en inmunología ha examinado la importancia y actividad de otras citocinas como por ejemplo, interleucina-12 (ver, por ejemplo, Y.-W. Tang et al., "Interleukin-12 Treatment during Immunization Elicits a T Helper Cell Type 1-like Immune Response in Mice Challenged with Respiratory Syncytial Virus and Improves Vaccine Immunogenicity," J. Infectious Diseases 172: 734-738 (1995); S. Morris et al., "Effects of IL-12 on in Vivo Cytokine Gene

Expression and Ig Isotype Selection," J. Immunology, pp. 1047-1056 (1994); J. Orange et al., "Effects of IL-12 on the Response and Susceptibility to Experimental Viral Infections," J. Immunology, pp. 1253-1264 (1994); G. Trinchieri, "Interleukin-12 and its role in the generation of T_H1 cells," Immunology Today 14(7): 335-338 (1993); R. Gazzinelli et al., "Interleukin-12 is required for the T-lymphocyte-independent induction of interferon γ by an intracellular parasite and induces resistance in T-cell-deficient hosts," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6115-6119 (Julio de 1993); R. Locksley, "Commentary: Interleukin-12 in host defense against microbial pathogens," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5879-5880 (Julio de 1993); B. Graham et al., "Priming Immunization Determines T Helper Cytokine mRNA Expression Patterns in Lungs of Mice Challenged with Respiratory Syncytial Virus," J. Immunology 151: 2032-2040 (15 de agosto de 1993); J. Sypek et al., "Resolution of Cutaneous Leishmaniasis: Interleukin 12 Initiates a Protective T Helper Type 1 Immune Response," J. Exp. Med. 177: 1797-1802 (Junio de 1993); F. Heinzel et al., "Recombinant Interleukin 12 Cures Mice Infected with *Leishmania major*", J. Exp. Med. 177: 1505-1509 (mayo de 1993); C. Tripp et al., "Interleukin 12 and tumor necrosis factor α are costimulators of interferon γ production by natural killer cells in severe combined immunodeficiency mice

with listeriosis, and interleukin 10 is a physiologic antagonist," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 3725-3729 (Abril de 1993); R. Manetti et al., "Natural Killer Cell Stimulatory Factor (Interleukin 12 [IL-12]) Induces T Helper Type 1 (Th1)-specific Immune Responses and Inhibits the Development of IL-4-producing Th Cells," J. Exp. Med. 177: 1199-1204 (Abril de 1993); C.-S. Hsieh et al., "Development of T_H1 CD4⁺ T Cells Through IL-12 Produced by *Listeria*-Induced Macrophages," Science 260: 547-548 (23 de abril de 1993); P. Scott, "IL-12: Initiation Cytokine for Cell-Mediated Immunity," Science 260: 496-497 (23 de abril de 1993); M. Gately et al., "Regulation of Human Cytolytic Lymphocyte Responses by Interleukin 12," Cellular Immunology 143: 127-142 (1992); A. D'Andrea et al., "Production of Natural Killer Cell Stimulatory Factor (Interleukin 12) by Peripheral Blood Mononuclear Cells," J. Exp. Med. 176: 1387-1398 (Noviembre de 1992); B. Naume et al., "A comparative study of IL-12 (Cytotoxic Lymphocyte Maturation Factor)-, IL-2-, and IL-7-induced effects on Immunomagnetically purified CD56 NK cells," J. Immunology 148: 2429-2436 (15 de abril de 1992); S. Chan et al., "Induction of Interferon γ Production by Natural Killer Cell Stimulatory Factor: Characterization of the Responder Cells and Synergy with Other Inducers," J. Exp. Med. 173: 869-879 (Abril de 1991); y M. Kobayashi et al., "Identification and Purification of Natural Killer Cell

Stimulatory Factor (NKSF), a Cytokine with Multiple Biologic Effects on Human Lymphocytes," J. Exp. Med. 170: 827-845 (septiembre de 1989)).

La interleucina-12 (de aquí en adelante referida como "IL-12") ha demostrado actividad de adyuvante para producir una inmunidad mediada por células en contra de leishmaniasis en ratones BALB/c (L. Afonso et al., "The Adjuvant Effect of Interleukin-12 in a Vaccine Against *Leishmania major*," Science 263: 235-237 (14 de enero de 1994)). La adjudicación de protección contra *L. major* se basó sobre la actividad de IL-12 para inducir el desarrollo de células CD4⁺ T_H1 (T colaboradoras) específicas para leishmania. La Patente de E. U. Núm. 5, 571,515 (Scott et al.) y las divisiones relacionadas, las Patentes de E. U. Nos. 5,723,127 y 5,976,539, describen el uso de IL-12 como una adyuvante contra leishmaniasis al potencializar la respuesta inmunitaria mediada por células para un antígeno que comprende el parásito protozoario. Basándose en la descripción del uso de IL-12 como un adyuvante en el modelo de leishmaniasis y con una vacuna contra el cáncer, la Patente de E. U. Núm. 5, 723,127 se relaciona con composiciones antigénicas de antígenos seleccionados e IL-12 y el método para incrementar la habilidad de las composiciones para producir la respuesta inmunitaria mediada por células del hospedero con respecto a los antígenos

seleccionados. La Patente de E. U. Núm. 5,976,539 se enfoca a una composición de un antígeno seleccionado a partir de células cancerígenas o células cancerígenas transfectadas con un antígeno seleccionado y IL-12 y con el método de uso de los mismos. Otra continuación relacionada en esta serie, la Patente de E. U. Núm. 6,168,293 B1 (Scott et al.), reivindica una composición que comprende un antígeno que consiste de un microorganismo patógeno y IL-12 que produce una respuesta inmunitaria mediada por células del hospedero vacunado en contra del microorganismo y a un método para administrar IL-12 para incrementar la habilidad de la composición inmunogénica para producir una respuesta inmunitaria mediada por células del hospedero vacunado.

La Patente de E. U. Núm. 5,665,347 (Metzenger et al.) describe que, además de la activación de células T_H1 (T colaboradoras). La IL-12 inhibe la actividad funcional de la actividad de células B1 pero no de células B2 y las células B1 poseen un receptor para IL-12. Los concesionarios de la patente sugieren que la IL-12 puede encontrar un uso para el tratamiento contra los trastornos de células B1 tales como leucemia linfocítica crónica, linfomas y mononucleosis infecciosa.

La Patente de E. U. Núm. 5,817,637 (Weiner et al.) se relaciona con un juego de reactivos inmunizante farmacéutico que utiliza material genético como el agente inmunizante en

dos inóculos separados. Un tercer inóculo contiene bupivacaína que puede combinarse con otros agentes intensificadores de la respuesta como agentes de transfección, replicación o inflamatorios, por ejemplo, lectinas, factores de crecimiento, citocinas (como interferón- , interferón- , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, etc.) y linfoquinas.

La Patente de E. U. Núm. 5,985,264 (Metzger et al.) se refiere a un método para intensificar una respuesta inmunitaria a un patógeno en un hospedero neonato que comprende la administración de IL-12 y un antígeno para inducir memoria para respuestas protectoras cuando sea adulto. El hospedero neonato es un mamífero, por ejemplo un humano, murino, felino, canino, bovino o porcino e incluye el feto así como el recién nacido hasta aproximadamente 2 años después del nacimiento. El antígeno se describe como una bacteria (por ejemplo, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *H. influenza*), virus (por ejemplo, hepatitis, sarampión, poliovirus, inmunodeficiencia humana, influenza, parainfluenza, sincicial respiratorio), parásitos (por ejemplo, *Leishmania*, *Schistosoma*) y hongos (por ejemplo, *Candida*, *Aspergillus*).

La Patente de E. U. Núm. 5,744,132 (Warne et al.) describe composiciones y métodos para proporcionar preparaciones concentradas de IL-12 en una formulación

congelada, líquida o liofilizada de la proteína IL-12, polisorbato, un crioprotector, cargas y amortiguadores. La Patente de E. U. Núm. 5,853,714 (Deetz et al.) proporciona un método para la purificación de IL-12 utilizando una resina hidrófoba de interacción cromatográfica para elaborar IL-12 libre de contaminantes como virus y proteínas de la célula hospedera.

Además de la técnica anterior, hay varias patentes y publicaciones en este extenso campo que describen el uso de IL-12 con ciertos antígenos, por ejemplo, como un adyuvante en las vacunas de paramixoviridae (Patente de E. U. Núm. 6,071,893, Graham et al.), para intensificar la tolerancia oral y el tratamiento contra enfermedades autoinmunitarias (WO 98/16248), para el tratamiento de la inflamación (Patente de E. U. Núm. 5,674,483, Tu et al.), como un adyuvante en las vacunas contra *Bordetella pertussis* (WO 97/45139) o como un coadyuvante con IL-13 en vacunas que contienen antígenos como influenza A, VIH, toxoide tetánico, etc. (WO 98/31384) y lo similar. Una mayor investigación ha proporcionado una variedad de citocinas de animales y los métodos para producirlas, por ejemplo, IL-12 felina (C. Leutenegger et al., "Immunization of Cats against Feline Immunodeficiency Virus (FIV) Infection by Using Minimalistic Immunogenic Defined Gene Expression Vector Vaccines Expressing FIV gp140 Alone or with Feline Interleukin-12 (IL-12), IL-16 or a CpG

Motif," J. Virology 74(22): 10447-10457 (noviembre de 2000) y WO 01/4155 A2), IL-15 aviar (WO 97/14433), IL-5 ó IL-2 de ovino (WO 97/00321), para nombrar unas cuantas.

Otras investigaciones, incluyendo algunas publicaciones descritas anteriormente, se han enfocado en formulaciones particulares de vacuna y métodos para lograrlas. La Patente de E. U. Núm. 5,242,686 (Chu et al.), por ejemplo, se refiere a un proceso para preparar una composición de vacuna felina que se utiliza contra infecciones de *chlamydia*. Las células de *chlamydia* inactivadas de mamífero o sus antígenos pueden combinarse con un adyuvante inmunogénicamente adecuado y con un portador fisiológicamente aceptable. La Patente enumera el adyuvante, por ejemplo, como tensioactivos, polianiones, policationes, péptidos, tuftsina, emulsiones aceitosas, inmunorreguladores como interleucina-1, interleucina-2 e interferones, copolímeros del ácido acrílico como copolímero de etileno/maleico anhídrido, copolímeros de estireno con una mezcla de ácido acrílico y ácido metacrílico y combinaciones de los mismos.

La Patente de E. U. Núm. 5,733,555 (Chu) y su continuación, la Patente de E. U. Núm. 5,958,423 se refieren a una composición de vacuna para inmunizar un animal contra infecciones causadas por el Virus Sincicial Respiratorio Bovino ("BRSV") que contiene BRSV vivo modificado solo o combinado con un Virus IV de Rinotraqueitis Bovina, un virus

de Diarrea Viral Bovina y un Virus de Parainfluenza 3, un adyuvante y un portador farmacéuticamente aceptable. La composición produce inmunidad protectora después de una sola administración por medio de inmunidad mediada por células, inmunidad por inmunoglobulina A secretoria y una combinación de éstos. El adyuvante puede además comprender un tensioactivo monooleato de polioxietilensorbitán. Las patentes enumeran otros adyuvantes como escualano, escualeno, copolímeros de bloque saponina, detergentes, Quil A, aceites minerales, aceites vegetales, interleucinas como interleucina-1, interleucina-2 e interleucina-12, factor de necrosis tumoral, interferones, combinaciones como saponina e hidróxido de aluminio o Quil A e hidróxido de aluminio, liposomas, adyuvantes Iscom, glicopéptidos sintéticos como los dipéptidos de muramilo, dextrán, carboxipolimetileno, EMA®, emulsiones de copolímero acrílico como Neocryl® A640 o mezclas de los mismos.

Sin embargo, no se ha descrito o ejemplificado una técnica donde la IL-12 u otros inmunorreguladores puedan intensificar de manera efectiva y notable, la inmunogenicidad de antígenos potencialmente tóxicos, inmunosupresores o débiles cuando se administran simultáneamente de manera específica con los inmunoadyuvantes.

Por lo tanto es un objetivo importante de la presente invención proporcionar una vacuna única que posea

inmunogenicidad significativamente mejorada para los mamíferos y aves y que comprenda antígenos débiles o inmunosupresores o antígenos con un estrecho margen de seguridad en combinación con la combinación novedosa que comprende los inmunorreguladores y los inmunoadyuvantes de la invención.

Otro objetivo es proporcionar un nuevo método para utilizar la combinación que comprende los inmunorreguladores y los inmunoadyuvantes o la vacuna que contiene la combinación para mejorar sustancialmente la inmunogenicidad de la vacuna al inducir una estimulación más fuerte sobre la inmunidad mediada por células incluyendo las células T de memoria y proporcionar una mayor duración de inmunidad requiriendo así dosis menores o menos frecuentes de antígenos durante un período de tiempo disminuyendo los efectos secundarios o potencial de toxicidad.

Otro objetivo es proporcionar un nuevo método para potencializar, acelerar o ampliar la actividad inmunológica de un antígeno en especies aviares o de mamífero.

Otros propósitos y objetivos de la presente invención aparecerán conforme proceda la especificación.

Los objetivos anteriores se logran proporcionando una combinación de inmunorreguladores e inmunoadyuvantes y una vacuna en donde un inmunorregulador se formula conjuntamente con un inmunoadyuvante y un antígeno viral, bacteriano,

parasitario o fúngico. El producto de la invención produce una respuesta inmunológica muy mejorada para el antígeno en comparación a las vacunas clásicas que comprenden una citocina por sí sola. El antecedente de la invención y su desviación de la técnica se describirá aún más a continuación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención involucra una formulación mejorada de vacuna que comprende una cantidad inmunizante efectiva de un antígeno, un inmunorregulador y uno o más inmunoadyuvantes en donde la inmunogenicidad o eficacia fisiológica de la vacuna se intensifica significativamente. La invención incluye la combinación novedosa de la composición que comprende los inmunorreguladores y los inmunoadyuvantes que mejoran notablemente la respuesta inmunológica de un hospedero vacunado hacia el antígeno. También, la presente invención se refiere a un método novedoso para potencializar, acelerar o ampliar la inmunogenicidad de antígenos marginalmente seguros, inmunosupresores o débiles que comprende administrarle a una especie aviar o de mamífero, una cantidad farmacológicamente efectiva de la composición combinada anteriormente mencionada o una cantidad de vacuna efectiva de la composición de vacuna anteriormente descrita.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

De conformidad con la presente invención, la composición

novedosa de vacuna comprende una cantidad inmunizante efectiva de un antígeno, un inmunorregulador, uno o más inmunoadyuvantes y un portador farmacéuticamente aceptable. Sorprendentemente, la incorporación del inmunorregulador y los inmunoadyuvantes en las vacunas potencializa significativamente la inmunogenicidad y eficacia fisiológica de la sustancia antigénica. La combinación exclusiva del inmunorregulador e inmunoadyuvante tiene aplicación beneficiosa para incrementar la actividad biológica de diversos antígenos.

El antígeno abarca una amplia variedad de agentes infecciosos contemplados por aquellos diestros en la técnica de farmacéutica y veterinaria. El agente infeccioso, por ejemplo, puede ser viral, bacteriano o fúngico en cuanto a naturaleza. Otros agentes infecciosos incluyen, pero no se limitan a los parásitos, antígenos tumorales y antígenos de otras enfermedades patológicas. El antígeno o combinación de antígenos en particular a ser empleado en la composición de vacuna dependerá de la especie que se va a vacunar y de los resultados deseados.

El antígeno se incorpora con el inmunorregulador y el inmunoadyuvante en cantidades que varían usualmente en la gama de aproximadamente 0.00001% hasta aproximadamente 1.0% en peso. Los ejemplos de los antígenos virales típicos incluyen, pero no se limitan al Virus Sincicial Respiratorio

Bovino, virus tipo 1 de herpes simplex (HSV), virus de la diarrea bovina (BVD), virus de parainfluenza-3 (PI), parvovirus canino (CPV), virus de parainfluenza canina (CPI), adenovirus tipo II canino (CAV-2), adenovirus canino (CDV), coronavirus canino (CCV), virus de la rabia (particularmente para, pero no limitándose a vacunas contra rabia canina), virus de inmunodeficiencia felina (FIV), virus de leucemia felina (FeL V), coronavirus felino (agente etiológico de peritonitis infecciosa felina (FIP)), Virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRS), virus herpes del pollo (agente etiológico de Enfermedad de Mareck), etc. Los antígenos bacterianos típicos incluyen, pero no se limitan a, *Chlamydia*, *Ehrlichia*, *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Borrelia*, *Mycoplasma* (por ejemplo, enfermedad porcina de *Mycoplasma hyopneumoniae*), etc. Los antígenos parasitarios típicos incluyen, pero no se limitan a, *Leptospira*, *Coccidia*, *Hemosporidia*, *Amoebida*, *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Giardia*, *Histomonas*, etc. Los antígenos fúngicos típicos incluyen, pero no se limitan a, *Coccidioides*, *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, etc.

El inmunorregulador está presente en la vacuna mejorada de la invención en cantidades que varían ligeramente en la gama de aproximadamente 0.00001% hasta aproximadamente 0.01% en peso. Los ejemplos de los inmunorreguladores adecuados

incluyen, pero no se limitan a, citocinas como IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, etc., interferones como interferón- α o interferón- γ , factor de necrosis tumoral, factor de la transformación del crecimiento, factor estimulante de colonias y lo similar o una combinación de los mismos. Deseablemente, el inmunorregulador comprende una citocina. En una modalidad preferida, el inmunorregulador es interleucina-12 y con mayor preferencia, la interleucina-12 animal homóloga como por ejemplo, la IL-12 canina se emplea en vacunas caninas; la IL-12 felina se emplea en vacunas felinas; la IL-12 equina se emplea en vacunas para caballos y así sucesivamente. La IL-12 humana o IL-12 de murino, como la IL-12 de humano recombinante (comercialmente disponible de Genetics Institute, Inc., Cambridge, MA) o la IL-12 de murino recombinante (comercialmente disponible de diversos proveedores como por ejemplo, Research Diagnostics, Inc., Flanders, NJ y Cambridge Bioscience, Cambridge, Inglaterra; ver también D. Schoenhaut et al., "Cloning and Expression of Murine IL-12" J. Immunology 248(1): 3433-3440 (1° de junio de 1992)), también pueden emplearse de manera adecuada para una diversidad de especies animales aunque el efecto inmunopotencializador tal vez no sea tan elevado como la IL-12 animal homóloga en algunas vacunas de animales.

Uno o más adyuvantes están presentes en la vacuna mejorada de la invención en cantidades diversas que

usualmente abarcan entre aproximadamente 0.05% hasta aproximadamente 50% en peso. Los ejemplos de inmunoadyuvantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, aceites metabolizables de origen vegetal o animal como el escualeno (2,6,10,15,19,23-hexametil-2,6,10,14,18,22-tetracosahexaeno) o preferiblemente, escualano (2,6,10,15,19,23-hexametil-tetracosano); copolímeros de bloque, por ejemplo, copolímeros de bloque de polioxipropileno-polioxietileno como Pluronic® (comercialmente disponible de BASF Corporation, Mount Olive, NJ); saponina como Quil A (nombre comercial de una forma purificada de Quillaja saponaria, disponible de Iscotec AB, Suecia y Superfos Biosector a/s, Vedbaek, Dinamarca); copolímeros de etileno/maleico como el EMA-31® (un copolímero lineal de copolímero de etileno/maleico anhidro que tiene cantidades aproximadamente iguales de etileno y maleico anhidro, con un peso molecular promedio estimado de aproximadamente 75,000 a 100,000, comercialmente disponible de Monsanto Co., St. Louis, MO); copolímeros de ácido acrílico; emulsiones de copolímero de ácido acrílico como Neocryl® (un copolímero acuoso no coligado de ácido acrílico, de ácido acrílico y metacrílico mezclados con estireno, comercialmente disponible de Polyvinyl Chemicals, Inc., Wilmington, MA); emulsiones de aceite mineral como MVP® (una emulsión de aceite en agua de aceite mineral ligero, comercialmente disponible de Modern Veterinary

Products, Omaha, NE) o mezclas de los mismos.

Los copolímeros de bloque preferidos de polioxipropileno-polioxietileno de la presente invención incluyen cantidades diversas de polioxipropileno y polioxietileno. Deseablemente, el copolímero de bloque comprende polioxietileno o una cantidad de aproximadamente 10-20% de la molécula total y polioxipropileno en un peso molecular promedio de aproximadamente 3250 a 4000.

Los copolímeros de etileno/maleico de la invención normalmente son polvos hidrosolubles, blancos y fluyentes que tienen las siguientes propiedades: una densidad verdadera de aproximadamente 1.54 g/mL, una temperatura de lenificación de aproximadamente 170°C, una temperatura de fusión de aproximadamente 235°C, una temperatura de descomposición de aproximadamente 274°C, una densidad a granel de aproximadamente 9.1 kg/30.48 cm (20 lbs/ft³ y un pH de aproximadamente 2.3 (1% solución).

Una emulsión preferida de copolímero de ácido acrílico de la invención es Neocryl® A640 que comprende un copolímero acuoso de ácido acrílico con un pH de 7.5, viscosidad de 100 cps (Brookfield, 25°C), un peso por cada 3.79 lts (por galón) de 3.9 kg (8.6 libras) como se proporciona conteniendo 40% de sólidos en peso, 38% de sólidos por volumen y un número de acidez de 48. Específicamente, Neocryl® A640 es una emulsión de látex de un copolímero no coligado de ácido acrílico

acuoso, de ácido acrílico y ácido metacrílico y ácido metacrílico mezclados con estireno. Otros productos útiles incluyen, pero no se limitan a, Neocryl® A520 y A625 y lo similar.

Las combinaciones preferidas de inmunorreguladores e inmunoadyuvantes comprenden una mezcla de IL-12 animal homólogo, escualeno y copolímero de bloque de polioxipropileno/polioxietileno, una mezcla de IL-12 animal homólogo y saponina; y una mezcla de IL-12 animal homóloga, EMA-31® y Neocryl® A640 con o sin una emulsión de aceite mineral. La IL-12 de murino o humana recombinante puede sustituirse por la IL-12 animal homóloga, aunque puede producirse como respuesta un efecto parcial de inmunopotencialización. Bajo aquellas circunstancias especiales, la eficacia o potencia pueden determinarse fácilmente mediante análisis rutinarios y luego puede titularse apropiadamente la dosis del ingrediente activo en el paciente o animal seleccionados.

Un portador farmacéuticamente aceptable también está presente en la composición de vacuna de la invención en cantidades diversas. La cantidad del portador no tóxico e inerte, ciertamente, dependerá de las cantidades seleccionadas para los demás ingredientes, de la concentración deseada de la sustancia antigénica activa, de la selección del frasco o vial, jeringa u otro vehículo

convencional, tamaño, etc. El portador puede agregarse a la vacuna en cualquier momento conveniente. En el caso de una vacuna liofilizada, el portador puede agregarse inmediatamente antes de su administración. Alternativamente, el producto final puede fabricarse junto al portador. Los ejemplos de portadores apropiados incluyen, pero no se limitan a agua estéril, solución salina, amortiguadores, solución salina amortiguada con fosfato, cloruro de sodio amortiguado, aceites vegetales, medio esencial mínimo (MEM), MEM con amortiguador HEPES, etc.

Opcionalmente, la composición puede contener adyuvantes convencionales y secundarios en diversas cantidades dependiendo del adyuvante y el resultado deseado. La cantidad habitual abarca desde aproximadamente 0.02% a 20% en peso o proporciona de aproximadamente 1 μg hasta aproximadamente 50 μg por dosis, dependiendo de los demás ingredientes y el efecto deseado. Los ejemplos de los adyuvantes secundarios adecuados incluyen, pero no se limitan a, estabilizadores, emulsionantes; hidróxido de aluminio; fosfato de aluminio; reguladores del pH como hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, etc.; tensioactivos como Tween® 80 (polisorbato 80, comercialmente disponible de Sigma Chemical Co., St. Louis, MO); liposomas; adyuvante Iscom; glicopéptidos sintéticos como dipéptidos de muramilo; cargas como dextrán o combinaciones con dextrán, por ejemplo, con fosfato de

aluminio; carboxipolimetileno; paredes celulares bacterianas como el extracto de pared celular de micobacteria; sus derivados como *Corynebacterium parvum*; *Protonibacterium* *acne*, *Mycobacterium bovis*, por ejemplo, Calmede Guern de Bovino (BCG); proteína de virus de la viruela animal o de vacuna; adyuvantes de partículas subvirales como orbivirus, toxina colérica; N,N-dioctadecil-N',N'-bis(2-hidroxietil)-propandiamina (avridina); lípido A de monofosforilo; bromuro de dimetildioctadecilamonio (DDA, comercialmente disponible de Kodak, Rochester, NY); productos sintéticos y mezclas de los mismos. Deseablemente, el hidróxido de aluminio se mezcla con otros adyuvantes secundarios o un inmunoadyuvante Quil A. Los ejemplos de los estabilizadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, sacarosa, gelatina, peptona, extractos de proteína digerida como NZ-Amine ó NZ-Amine AS. Los ejemplos de emulsionantes incluyen, pero no se limitan a, aceite mineral, aceite vegetal, aceite de cacahuete y otros aceites convencionales, metabolizables y no tóxicos útiles para vacunas inyectables o intranasales.

Para los propósitos de la invención, estos adyuvantes se identifican en la presente como "secundarios" simplemente para diferenciarlos con el inmunoadyuvante anteriormente descrito el cuál es un ingrediente esencial en la vacuna para su efecto en combinación con el inmunorregulador para incrementar de manera significativa la respuesta inmunitaria

humoral del mamífero o ave hacia la sustancia antigénica. Los adyuvantes secundarios se incluyen principalmente en la formulación de vacuna a manera de auxiliares del procesamiento aunque ciertos adyuvantes sí tienen propiedades inmunológicamente intensificadoras hasta cierto grado por lo cuál tienen doble propósito.

Según sea necesario, los conservadores convencionales pueden agregarse a la vacuna en cantidades efectivas que abarquen desde aproximadamente 0.0001% hasta aproximadamente 0.1% en peso. Dependiendo del conservador empleado en la formulación, las cantidades menores o mayores a esta gama pueden ser útiles. Los conservadores típicos incluyen, por ejemplo, sorbato de potasio, metabisulfito de sodio, fenol, metilparabeno, propilparabeno, timerosal, etc.

La elección de un método y vacuna inactivada, modificada o de otro tipo y la preparación de la formulación de vacuna mejorada de la presente invención se conocen ya o se determinan fácilmente por los expertos en la técnica. Como ilustración de la preparación de vacunas inactivadas, por ejemplo, el inmunorregulador, preferiblemente la IL-12 animal homóloga, se mezcla con uno o más antígenos, uno o más inmunoadyuvantes y opcionalmente, uno o más adyuvantes secundarios. Los antígenos pueden ser las especies inactivadas de FIV, FeLV, *E. canis*, CCV, *Leptospira*, etc. Como mayor ilustración, el inmunorregulador, preferiblemente

la IL-12 animal homóloga, se mezcla con antígenos en presencia o ausencia de inmunoadyuvantes o adyuvantes secundarios para preparar las vacunas modificadas. En este caso los antígenos pueden ser BRSV, *S. Equi*, CPV, CAV-2, CDV, CPI, etc. Sin embargo, se aprecia que las vacunas de la presente invención pueden elaborarse mediante una variedad de técnicas convencionales que se conocen bien por los expertos en la técnica de las formulaciones y no se limitan por las ilustraciones descritas en la presente.

La combinación que comprende los inmunorreguladores y los inmunoadyuvantes puede prepararse y administrarse como un producto separado. La cantidad farmacológicamente efectiva de esta composición intensificadora de la inmunogenicidad puede administrarse, por ejemplo, parenteralmente, oralmente o de alguna otra forma a un mamífero o ave antes de, concomitantemente con, secuencialmente o poco después de la administración de un antígeno marginalmente seguro, inmunosupresor o débil a fin de potencializar, acelerar o ampliar la inmunogenicidad del antígeno. Normalmente, la composición intensificadora de la inmunogenicidad se administra dentro de un período de 24 horas antes del inicio del proceso de vacunación y preferiblemente, dentro de un período de 4 para antes o concomitantemente con la vacunación. Si la vacunación requiere más de una dosis de sustancia antigénica, la composición intensificadora de la

inmunogenicidad puede administrarse de forma secuencial con la administración de la vacuna. Aunque es menos efectiva, la composición intensificadora de la inmunogenicidad puede administrarse después de la vacuna para reforzar la inmunidad contra el antígeno, pero rara vez más allá de un período de 24 horas.

Cuando se administra separadamente de la vacuna, la vacunación puede además comprender un portador farmacéuticamente aceptable y opcionalmente, adyuvantes secundarios que se describen en la presente. Tanto el inmunorregulador como el inmunoadyuvante pueden estar presentes en cantidades diversas, normalmente en un recipiente de forma unitaria de dosificación. Aunque la dosis de la formulación depende del antígeno, la especie, el peso corporal del hospedero vacunado o a ser vacunado, etc., la dosificación de una cantidad farmacológicamente efectiva del inmunorregulador normalmente abarcará de aproximadamente 0.1 μg hasta aproximadamente 100 μg por dosis y preferiblemente, aproximadamente 5 μg hasta aproximadamente 50 μg por dosis. El inmunoadyuvante normalmente abarca de aproximadamente 1 μg hasta aproximadamente 25 μg por dosis. Aunque la presencia y la cantidad del inmunoadyuvante particular en la combinación influye sobre la cantidad necesaria de inmunorregulador para mejorar la respuesta inmunitaria, se contempla que el practicante puede ajustar fácilmente la cantidad de dosis

efectiva del inmunorregulador mediante análisis rutinarios para cumplir con las circunstancias particulares.

Cuando se emplea la IL-12 animal homóloga, la cantidad del inmunorregulador en la vacuna puede reducirse significativamente debido a su potencia. Para las pequeñas especies como perros, gatos, etc., una gama de aproximadamente 0.02 μ g hasta aproximadamente 2 μ g por dosis de la IL-12 animal homóloga se utiliza normalmente, de aproximadamente 0.1 μ g hasta aproximadamente 1 μ g por dosis de la IL-12 animal se utiliza preferiblemente y aproximadamente 0.5 μ g por dosis se utiliza con mayor preferencia en la composición combinada de la invención. Para las grandes especies como caballos, ganado, cerdos, etc., una gama de aproximadamente 0.1 μ g hasta aproximadamente 0.25 μ g por dosis de IL-12 animal se utilizan normalmente y aproximadamente 0.5 μ g hasta aproximadamente 2.5 μ g por dosis se utilizan preferiblemente. Se apreciará que las cantidades menores y mayores de las gamas proporcionadas puedan encontrar sus usos respectivos en las aves más pequeñas y en los animales extremadamente grandes. Para retener la actividad biológica, también se recomienda que la IL-12 animal sea agregada a la vacuna o a la forma de dosificación unitaria inmediatamente antes de su uso.

Como un ejemplo no limitante, una vacuna canina adecuada puede comprender la cepa Ebony de *E. canis* a una

concentración/dosis de 1×10^5 TCID₅₀; *B. burgdorferi* IPS a una concentración/dosis de $5 \times E7$; *B. burgdorferi* B-31 a una concentración/dosis de $5 \times E8$; 5% v/v de emulsigen SA; 1% v/v de EMA-31®; 3% v/v de Neocryl® A640; 1:20,000 concentración de timerosal (5%); una cantidad adecuada de diluyente 1X MEM y IL-12 canina a una concentración por dosis de aproximadamente 0.5 µg o IL-12 humana a una concentración de aproximadamente 10 µg por dosis.

La presente invención además abarca el método novedoso para potencializar, acelerar o aumentar la inmunogenicidad de antígenos marginalmente seguros, inmunosupresores y débiles que comprende administrarle a una especie aviar o de mamífero, una cantidad farmacológicamente efectiva de la composición intensificadora de la inmunogenicidad o una cantidad efectiva inmunizante o de vacuna de la formulación de la vacuna descrita en la presente. La potencialización de la inmunogenicidad de los antígenos débiles, inmunosupresores o marginalmente seguros implica mejorar la potencia de los antígenos. La aceleración de la inmunogenicidad se refiere a hacer más rápida la manifestación de la acción. La extensión de la inmunogenicidad significa alargar la duración de la acción.

Como regla general, la vacuna de la presente invención se administra convenientemente de manera parenteral (subcutáneamente, intramuscularmente, intravenosamente,

intradérmicamente o intraperitonealmente), intrabucalmente, intranasalmente, transdérmicamente u oralmente. La ruta de administración contemplada en la presente invención dependerá de la sustancia antigénica y de los coformulantes. Por ejemplo, si la vacuna contiene saponinas, aunque no son tóxicas oralmente o intranasalmente, se deberá tener cuidado de no inyectar los glicósidos de sapogenina en el flujo sanguíneo ya que funcionan como potentes hemolíticos. También, varios antígenos no son efectivos si se ingieren oralmente. Preferiblemente, la vacuna se administra subcutáneamente, intramuscularmente o en el caso de *S. equi* u otros, intranasalmente.

La dosis de la vacuna dependerá del antígeno seleccionado, la ruta de administración, la especie, peso corporal y otros factores convencionales. Está contemplado que el experto en la técnica puede titular fácilmente la dosis apropiada para una respuesta inmunogénica para que cada antígeno logre la cantidad inmunizante efectiva y el método de administración.

De manera ventajosa, al utilizar el antígeno y un inmunorregulador como una citocina, preferiblemente la IL-12 animal homóloga, en combinación con los inmunoadyuvantes en una formulación de vacuna, la vacuna mejorada es muy antigénica, produce una estimulación más fuerte de células T de memoria de lo que se había logrado anteriormente. Las

titulaciones de anticuerpos séricos para sustancias antigénicas después de la vacunación con la formulación de la presente invención son mucho más elevadas que las titulaciones inducidas mediante la misma formulación en ausencia del inmunorregulador. Por ejemplo, un estudio previo mostró que las titulaciones de anticuerpos séricos para BRSV a los 14 días después de la vacunación con BRSV con un adyuvante de una mezcla de escualano y copolímero de bloque de polioxipropileno-polioxietileno fueron de aproximadamente 1:125. De manera sorprendente, las titulaciones de anticuerpos séricos para BRSV a los 14 días después de la vacunación con BRSV mezclados con escualano, un copolímero de bloque de polioxipropileno-polioxietileno y IL-12 humana recombinante son distintamente más elevadas en aproximadamente 1:395 y notablemente aún más elevadas en aproximadamente 1:366 después de 28 días. La inmunogenicidad significativamente intensificada. El inicio acelerado de acción y la duración extendida de inmunidad se ponen de manifiesto mediante titulaciones de anticuerpos séricos más elevadas (es decir, respuesta inmunitaria humoral) y una mayor estimulación de células T de memoria. La mejora sustancial en cuanto a eficacia de la vacuna de esta invención selectiva da una profunda desviación del estado de la técnica.

Como se utiliza en la presente, el término "UFC"

significa unidades formadoras de colonias. El término "unidad infecciosa" de BRSV, por ejemplo, se define como el TCID₅₀. El "TCID₅₀" o 50% Dosis Infecciosa en Cultivo Tisular se define como la dosis que infecta 50% del tejido tisular. Por ejemplo, cuando una solución que contiene un antígeno se diluye 1:100, 1 unidad infecciosa es igual a la cantidad que afecta al 50% del cultivo tisular. En el caso del BRSV, el TCID₅₀ es la cantidad de virus que se requiere para infectar o eliminar el 50% de las células del cultivo tisular. El término "inmunidad mediada por células" incluye la estimulación de Células T Colaboradoras, Células T Asesinas y Células T de Hipersensibilidad Retardada así como la estimulación de macrófagos, monocitos y otras que produzcan linfocina e interferón. La presencia de inmunidad mediada por células puede determinarse mediante valoraciones convencionales *in vivo* e *in vitro*. La inmunidad local como la IgA secretoria puede determinarse mediante valoraciones convencionales de ELISA ó IFA que muestren la titulación de anticuerpos séricos neutralizantes de uno o dos o más. La inmunidad local o mediada por células producidas según la presente invención es específica para o asociada directamente con el antígeno. El término "mamífero" se refiere a humanos, ganado, becerros, ovejas, venados, caballos, cerdos, cabras, perros, gatos y lo similar. El término "aviar" se refiere a aves de corral como pollos o patos y a otros tipos de aves

domesticas o salvajes. Aunque el uso veterinario en animales es el que se prefiere, se contempla que las composiciones de vacuna e intensificadoras de la inmunogenicidad descritas en la presente puedan tener un uso médico beneficioso.

Se puede obtener una mayor compresión de la presente invención a partir de los siguientes ejemplos no limitantes. Sin embargo, los ejemplos se exponen solamente para la ilustración de ciertos aspectos de la invención y no deberán considerarse como limitaciones de la misma. Se ha de entender que los ejemplos no se consideran totalmente definitivos en cuanto a las condiciones y el alcance de la invención. Además se debe apreciar que cuando se proporcionan condiciones típicas de reacción (por ejemplo, temperatura, tiempos de reacción, etc.), las condiciones tanto mayores o menores a los intervalos especificados también pueden utilizarse, aunque generalmente con menor conveniencia. Los siguientes estudios experimentales emplean IL-12 humana recombinante que se obtiene de Genetics Institute, Inc., Cambridge, MA, una subsidiaria de propiedad total de Wyeth, Madison, NJ. Al menos que se exprese otra cosa, los ejemplos se llevaron a cabo a temperatura ambiente (aproximadamente 23°C a 28°C) y a una presión atmosférica, todas las partes y porcentajes referidos en la presente son en peso y todas las temperaturas se expresan en grados centígrados.

EJEMPLO 1

Efecto de adyuvante sobre inmunogenicidad de vacuna para caballo

Se llevó a cabo un estudio para determinar el efecto de ciertos adyuvantes sobre la inmunogenicidad de una vacuna inactivada de *Streptococcus equi*. Para preparar los adyuvantes, se utilizan soluciones en existencia de IL-12 humana recombinante (4.45 mg/mL), saponina, un estabilizador para las vacunas vivas modificadas (SGGK-3, 25% v/v) y un medio de cultivo bacteriano (Caldo Modificado Todd Hewitt, MTHB). Se elaboran tres mezclas de adyuvantes para aproximarse a 10 µg de IL-12 por dosis, 50 µg de IL-12 por dosis y 10 µg de IL-12 más 5 mg de saponina por dosis.

Para preparar la mezcla de adyuvante que comprende aproximadamente 10 µg de IL-12 por dosis, se hace un diluyente de rehidratación al agregar aproximadamente 0.056 mL de IL-12 a aproximadamente 49.719 mL de una cantidad suficiente de agua hasta un total de 50 mL. Luego se hace un diluyente de ajuste agregando aproximadamente 0.056 mL de IL-12 a aproximadamente 12.5 mL de SGGK-3 (25% v/v) mezclada con aproximadamente 37.444 mL de MTHB.

Para preparar la mezcla del adyuvante que comprende aproximadamente 50 µg de IL-12 por dosis, un diluyente de rehidratación se hace al agregar aproximadamente 0.281 mL de IL-12 a aproximadamente 49.719 mL de una cantidad suficiente

de agua a un total de 50 mL. Un diluyente de ajuste también se hace al 'agregar aproximadamente 0.281 mL de IL-12 a aproximadamente 12.5 mL de SGGK-3 (25% v/v) mezclado con aproximadamente 37.219 mL de MTHB.

Para preparar la mezcla de adyuvante que comprende aproximadamente 10 µg más 5 mg de saponina por dosis, se hace un diluyente de rehidratación agregando aproximadamente 0.056 mL de IL-12 hasta aproximadamente 0.625 mL de saponina y la mezcla hasta aproximadamente 49.319 mL hasta obtener una cantidad suficiente de agua a un total de 50 mL. Luego se hace un diluyente de ajuste agregando aproximadamente 0.056 mL de IL-12 hasta aproximadamente 0.625 mL de saponina y la mezcla hasta aproximadamente 12.5 mL de SGGK-3 (25% v/v) mezclado con aproximadamente 37.819 mL de MTHB.

Para la preparación de cada vacuna, un frasco de Pinnacle® I.N. (una vacuna intranasal contra papera equina, comercialmente disponible de Fort Dodge Animal Health, Inc., una división veterinaria de Wyeth, Madison, NJ) se rehidrata con aproximadamente 2.5 mL de diluyente rehidratante. Se preparan diez dosis de vacuna para cada grupo (de aproximadamente 20 mL de vacuna). Después de rehidratar la vacuna, se agregan aproximadamente 0.467 mL de vacuna rehidratada en aproximadamente 19.533 mL de diluyente de ajuste para obtener una cantidad de aproximadamente 1×10^7 UFC por dosis.

Todos los caballos sometidos a la vacunas de prueba se vacunan dos veces con un intervalo de tres semanas entre las vacunaciones. La vacuna se administra intranasalmente con una jeringa conectada a un catéter de aproximadamente 13.98 cm (5.5 pulgadas) de longitud. La primera vacuna se administra en la fosa nasal izquierda y la segunda vacuna se administra en la fosa nasal derecha. Todos los caballos del grupo testigo se vacunan con una vacuna comercialmente disponible de *Streptococcus equi* (Stepguard® con Haviogen®, un adyuvante que consiste de carboxipolimetileno, fabricado por Bayer Animal Health, Inc., una división agrícola de Bayer Corporation) y reciben dos vacunas con tres semanas de diferencia. La vacuna comercial se administra intramuscularmente según las instrucciones del fabricante.

Cinco caballos no se vacunan y en vez, se inoculan con 1 mL (aproximadamente 5×10^8 UFC/mL) de la cepa CF-32 de *S. equi* en cada fosa nasal cinco días antes del contacto con el desafío. Se utiliza una jeringa con un catéter de aproximadamente 13.98 cm (5.5 pulgadas) de longitud para inocular a los caballos. Se observan diariamente los cinco caballos dos días antes hasta cinco días después del desafío para determinar los signos clínicos y la temperatura rectal. Se recolectan los aplicadores nasales diariamente después del desafío para monitorizar la multiplicación de *S. equi*. Veintiún días después de la vacunación, todos los caballos

vacunados se mezclan con los cinco caballos del desafío directo. Los animales se observan a diario desde -2 días a 0 días después de del desafío (DPC) para establecer la línea basal y 1 a 28 días DPC para observar los diversos signos clínicos. Los animales se observan además a los 30, 33 y 36 DPC.

La siguiente Tabla 1 muestra que los adyuvantes de IL-12 (aproximadamente 50 μ g de IL-12/dosis) y una combinación de IL-12 con saponina son relativamente mejores inmunoestimuladores en comparación al resto de los adyuvantes utilizados en el estudio según se demuestra por la puntuación clínica promedio, incidencia de abscesos de nódulos linfáticos locales, multiplicación de *S. equi* y abscesos diseminados. Los caballos en ambos grupos muestran aproximadamente 35% hasta aproximadamente 40% de reducción en la incidencia de abscesos diseminados y aproximadamente 23% hasta aproximadamente 40% de reducción sobre la puntuación clínica promedio en comparación al grupo que recibe la vacuna comercial sin IL-12 o la combinación de IL-12 y saponina.

Tabla 1
Resultados de estudio de *S. Equi*

Adyuvante	Total de caballos por grupo	Cantidad de caballos con abscesos locales	Cantidad de caballos con abscesos diseminados	% Reducción de caballos con abscesos diseminados ¹	Puntuación clínica promedio	% Reducción de puntuación clínica promedio en comparación con grupo Bayer
Aceite SP	5	5	2	20%	65.6	13%
IL-12 (10 µg)	5	5	1	40%	59.6	14%
IL-12 (50 µg)	5	4	1	40%	52.8	23%
IL-12 (10 µg) + saponina	4	3	1	35%	47.5	40%
Carbopol	5	5	2	20%	61.8	21%
DDA + DEAE Dex ³	4	4	2	10%	65.2	17%
Vacuna Bayer	5	5	3	N/A ²	78.6	N/A

¹ Porcentaje de reducción de abscesos diseminados y puntuación clínica promedio se cuantifican para cada grupo en comparación con grupo Bayer.

² "N/A" significa no aplicable

³ "DDA" es bromuro de dimetildioctadecilamonio y "DEAE Dex" es dietilaminoetil-dextrán.

EJEMPLO 2

Efecto de adyuvante sobre inmunogenicidad de vacuna para ganado

Se lleva acabo un estudio para determinar el efecto de ciertos adyuvantes sobre la inmunogenicidad de una vacuna viva modificada de BRSV (Virus Sincicial Respiratorio Bovino). Para preparar el adyuvante, se utilizan soluciones en existencia de adyuvante de aceite SP (5% v/v) y IL-12 humana recombinante (aproximadamente 1,260 µg por mL).

Se prepara el aceite SP mezclando 20 mL de Pluronic® L121 (un copolímero de bloque de polioxipropileno-polioxietileno, comercialmente disponible de BASF Corporation, Mount Olive, NJ), 40 mL de escualano, 3.2 mL de polisorbato 80 y 936.8 mL de una solución salina amortiguada y se homogeniza la mezcla hasta que se forma una emulsión o masa estable. Antes de la homogenización, los ingredientes o mezcla se esterilizan en autoclave. La emulsión se esteriliza aún más mediante filtración. Se agrega formalina y timerosal

a una concentración final de 0.2% y a una dilución de 1:10,000, respectivamente.

La mezcla de adyuvante, que comprende aproximadamente 5% v/v de aceite SP más aproximadamente 10 µg de IL-12 por dosis, se hace agregando aproximadamente 0.278 mL de IL-12 hasta aproximadamente 69.722 mL de 5% v/v de aceite SP para hacer aproximadamente 70 mL de aproximadamente 5% v/v de aceite SP más aproximadamente 10 µg/dosis de adyuvante de IL-12.

Para la preparación de la vacuna, el BRSV se cultiva en células MDBK (células de Riñón Bovino Madin-Darby; la línea celular MDBK se deriva de un riñón de novillo adulto normal) y se recolectan seis días después de la inoculación. El sedimento de vacuna se mezcla a una titulación BRSV de aproximadamente $10^{5.7}$ TCID₅₀ por dosis con MEM y luego se liofiliza. El sedimento de vacuna liofilizado se vuelve a rehidratar con la IL-12 anteriormente descrita que contiene el diluyente de adyuvante para elaborar la preparación final de vacuna.

Nueve becerros, de aproximadamente seis meses de edad, se vacunan subcutáneamente con la vacuna contra BRSV, dejando siete becerros como el grupo testigo. La respuesta de anticuerpos séricos se cuantifica detectando el anticuerpo específico para BRSV. La eficacia de las vacunas se demuestra desafiando las vacunas y los testigos con BRSV virulento 28 días después de la vacunación.

Las vacunas de BRSV vivo modificado con adyuvante de aceite SP + IL-12 indujo una respuesta de anticuerpos de elevada titulación (aproximadamente 1:366 28 días después de la vacunación) para el BRSV. Después del desafío con BRSV virulento, la severidad de la enfermedad se reduce en el grupo vacunado en comparación con el grupo testigo (aproximadamente un 53% de reducción). Esto indica que el adyuvante de aceite SP + IL-12 utilizado en este estudio es compatible con la vacuna de virus vivo modificado de BRSV y puede intensificar significativamente la eficacia de la vacuna de virus modificado de BRS.

La siguiente Tabla 2 muestra la respuesta de anticuerpos para BRSV de becerros vacunados con BRSV vivo modificado y adyuvante que contiene IL-12.

Tabla 2
Respuesta de anticuerpos para BRSV

Grupo	Cantidad de animales	0 DPV	14 DPV	28 DPV/0 DPC	7 DPC	14 DPC
Vacunados	9	< 5	625	366	150	2,420
Testigo	7	< 5	< 5	< 5	< 5	125

La siguiente Tabla 3 muestra la reducción de enfermedad de becerros vacunados con BRSV vivo modificado y adyuvante que contiene IL-12 después de un desafío con BRSV virulento.

Tabla 3
Reducción de enfermedad

Grupo	Cantidad de animales	Puntuación total promedio	Disminución de enfermedad
Vacunados	9	2.7	53% ¹
Testigo	7	5.7	N/A ²

¹ La reducción de enfermedad es el porcentaje de becerros que no muestran la enfermedad después del desafío en comparación a los testigos.

² "N/A" significa no aplicable.

EJEMPLO 3

Efecto de adyuvante sobre la eficacia de vacuna para perro

Se lleva a cabo un estudio para determinar el efecto de ciertos adyuvantes sobre la inmunogenicidad de una vacuna monovalente, bacterina inactivada de *Ehrlichia canis*. Para preparar el adyuvante, se utilizan soluciones en existencia de IL-12 humana recombinante (4.45 mg/mL), EMA-31® (1% v/v, un copolímero lineal de etileno/maleico anhídrido con cantidades aproximadamente iguales de etileno y maleico anhídrido, con un peso molecular promedio ponderado de aproximadamente 75,000 a 100,000, comercialmente disponible de Monsanto Co., St. Louis, MO) y Neocryl® A640 (1% v/v, de un copolímero no coligado de ácido acrílico acuoso del ácido acrílico y ácido metacrílico mezclados con estireno, que

tienen un pH de 7.5, y una viscosidad de 100 cps (Brookfield, 25°C), un peso 3.79 lts (por galón) de 3.9 kg (8.6 libras) como se proporciona que contiene 40% sólidos en peso, 38% sólidos en volumen y un número de acidez de 48, comercialmente disponible de Polyvinyl Chemicals, Inc., Wilmington, MA). Se prepara una solución de trabajo de IL-12 en un amortiguador de dilución que comprende solución salina amortiguada con fosfato sin magnesio ni calcio. Se agregan 45 μ L de la solución en existencia de IL-12 a 9,955 μ L del amortiguador de dilución. La concentración final de la solución de trabajo de IL-12 diluida es 20 μ g/mL.

Para la preparación de la vacuna, aproximadamente 1×10^4 ó 1×10^5 TCID₅₀ de una cepa inactivada Ebony de *E. canis* se mezcla con 1% v/v de EMA-31® y 3% v/v de Neocryl®. Se agrega 2% de timerosal a la vacuna a un nivel de aproximadamente 1:20,000 como conservador. La solución de trabajo de IL.12 diluida en la cantidad de 500 μ L por dosis se mezcla con la vacuna antes de su inyección. La vacuna para el grupo 4 como se muestra en la siguiente Tabla 4 se mezcla con 100 μ g/dosis de Bacterina de Calmede Guern Bovino (BCG).

Se dividen aleatoreamente 45 perros en 6 grupos incluyendo cuatro grupos de vacunación y dos grupos testigo. Los vacunados se vacunan con una cepa monovalente Ebony de *E. canis* a dos niveles de antígeno. Como se muestra en la siguiente Tabla 4, el grupo dos se vacuna con el nivel de

antígeno de aproximadamente 1×10^4 TCID₅₀ y el resto se vacunan con el nivel de antígeno de aproximadamente 1×10^5 TCID₅₀. El grupo 2, 3 y 5 se vacunan con una vacuna mezclada con 10 µg de IL-12 por dosis. El grupo 4 se vacuna con una vacuna que contiene BCG como adyuvante. Dos dosis de cada vacuna se administran a 20 semanas de edad y a las 23 semanas de edad, respectivamente. Para demostrar la posibilidad de una protección cruzada, los grupos 5 y 6 se desafían heterogéneamente con una cepa Broadford de *E. canis* y los demás se desafían homogéneamente con una cepa de Ebony de *E. canis*.

Se muestran en la siguiente Tabla 4, que 2 de los 5 perros (40%) en el grupo 3 y 2 de los 6 perros (33%) en el grupo 4 están libres de trombocitopenia cuando los vacunados se desafían homogéneamente con una cepa Ebony de *E. canis*. Cien por ciento de los testigos (grupo 1) y los perros vacunados con la vacuna de dosis baja (grupo 2) tuvieron una severa trombocitopenia hasta el final del estudio. En términos de mortalidad, 5 de cada 6 testigos (83%) están muertos o se les aplicó eutanasia durante el período de observación. Los perros vacunados con la vacuna de dosis baja con adyuvante de IL-12 (grupo 2) y los perros vacunados con la vacuna con adyuvante de BCG (grupo 4) tuvieron una tasa de mortalidad del 33%. Basándose en los datos de morbilidad y mortalidad, la vacuna de *E. canis* con adyuvante de IL.12 intensificó significativamente la inmunidad protectora contra un desafío de *E. canis* homogéneo.

En comparación con los testigos, la adición de IL-12 en combinación con EMA-31® y Neocryl® incrementa en gran medida la eficacia de la vacuna monovalente de *E. canis* y reduce significativamente la mortalidad. La protección inducida por la combinación de IL-12 como se muestra en los grupos 2 y 3 es dependiente de la dosis de antígeno. Además, en comparación a BCG, las respuestas de adyuvante inducidas por la combinación de IL-12 tienen una función crítica en la reducción de perros vacunados a partir de un desafío letal con *E. canis*.

La siguiente Tabla 4 muestra los resultados del estudio de preinmunogenicidad de una vacuna monovalente de *E. canis* con adyuvante de IL.12 humana recombinante.

Tabla 4
Estudio de preinmunogenicidad

Grupo Número	Cantidad de animales	Tratamiento	Material del desafío	Tromboci- topenia	Mortalidad (%)	Temperatura rectal
1	6	Testigo	Ebony	6/6 ¹	5/6, 83%	6/6 ²
2	6	10e4 EB/IL12	Ebony	6/6	2/6, 33%	6/6
3	5	10e5 EB/IL12	Ebony	3/5	0/5, 0%	3/5
4	6	10e5 EB/BCG	Ebony	4/6	2/6, 33%	6/6
5	6	10e5 EB/IL12	Broadfoot	2/6	0/6, 0%	2/6
6	6	Testigo	Broadfoot	2/6	0/6, 0%	2/6

¹ La proporción representa la cantidad de perros trombocitopénicos por el total de perros analizados.

² La proporción representa la cantidad de perros que tienen una temperatura rectal elevada por la cantidad de perros en ese grupo.

EJEMPLO 4

Evaluación de respuesta inmunitaria humoral con respecto a una vacuna para perro

Se lleva a cabo un estudio para determinar el efecto de ciertos adyuvantes sobre la inmunogenicidad de virus inactivados y vivos modificados y bacterina inactivada de la Vacuna Canina Duramune® 10 (compuesta de parvovirus canino atenuado vivo y liofilizado, (CPV), virus de parainfluenza canina (CPI), adenovirus canino tipo II (CAV-2), adenovirus canino (CDV) y un diluyente que contiene coronavirus canino (CCV), *Leptospira icterohemorrhagiae* (LI), *Leptospira canicola* (LC), *Leptospira grippotyphosa* (LG) y *Leptospira pomona* (LP), virus inactivado y fracciones de bacterina, comercialmente disponible de Fort Dodge Animal health, Inc., una división veterinaria de Wyeth, Madison, NJ. Para preparar el adyuvante, las soluciones en existencia de IL-12 humana recombinante (4.45 mg/mL), vacuna de inmunogenicidad Duramune® 10, EMA-31®, Neocryl® A640 y timerosal (2% v/v) son utilizadas.

Para la preparación de la vacuna de prueba, el adyuvante inicial se prepara mezclando Neocryl® y EMA-31® a una concentración final de aproximadamente 3% y aproximadamente 1%, respectivamente. Se agrega el timerosal a la concentración de aproximadamente 1:20,000 como un conservador.

Para preparar el diluyente con adyuvante IL-12, la porción diluyente de la vacuna Duramune® 10 se mezcla primero con el adyuvante inicial anterior a una proporción de aproximadamente 1:10, una parte de diluyente Duramune® 10 y nueve partes del adyuvante inicial que comprende Neocryl® y EMA-31®. La IL-12 humana recombinante se agrega a una concentración final de aproximadamente 10 µg ó 40 µg por dosis.

Antes de usarse, una parte de la porción liofilizada de la vacuna Duramune® 10 se rehidrata en 9 partes del diluyente con adyuvante IL-12. Por lo tanto, las fracciones de la vacuna Duramune® 10 utilizadas en este estudio es de aproximadamente 10 veces menor a la vacuna de inmunogenicidad convencional. En otras palabras, la vacuna analizada en este estudio contiene una cantidad insuficiente de antígeno (subpotente) en comparación a las vacunas reguladas diseñadas a escala comercial.

Un total de 15 perros se dividen aleatoriamente en tres grupos de 5 perros cada uno y se vacunan dos veces

subcutáneamente a las 10 semanas de edad y 13 semanas de edad. El primer grupo se vacuna con una vacuna que contiene aproximadamente 10 μ g de IL-12. El segundo grupo se vacuna con una vacuna que contiene aproximadamente 40 μ g de IL-12. El tercer grupo se vacuna con un placebo Duramune® 10 diluido 1:10 sin IL-12.

Los perros se sangran para obtener suero 0 días después de la vacunación 1 (0 DPV1) y 0 días después de la vacunación 2 (0 DPV2), 7, 14, 21 y 28 DPV2. Las titulaciones de anticuerpos para *Leptospira* se determinan mediante análisis de microaglutinación (MAT).

Los resultados se exponen en detalle en las siguientes Tablas 5-8. La diferencia significativa entre el grupo principal y el placebo se observan en las fracciones LP y LG. Para la fracción LP enumerada en la Tabla 5, la diferencia significativa se observa en 0 DPV2 (grupo vacunado con aproximadamente 10 μ g de IL-12) y 21 DPV2 (mismo grupo). Para la fracción de LG enumerada en la Tabla 6, la diferencia significativa se observa en 0 DPV2 (grupo vacunado con aproximadamente 40 μ g de IL-12), 7, 14 y 21 DPV2 (ambos son grupos de 10 y 40 μ g). No se observa una diferencia significativa en las otras dos fracciones (Tablas 7 y 8). Por lo tanto, la adición de IL-12 a la mezcla de EMA-31® y Neocryl® intensifica las respuestas inmunitarias humorales para las dos leptospirosis LP y LG.

Tabla 5
Resultados de valoración MAT de *L. pomona*

Grupo	0 DPV 1	0 DPV 2	7 DPV 2	14 DPV 2	21 DPV 2
Duramune® 10 + IL-12 (10 µg)	≤ 4	147 ¹	512	388	256 ¹
Duramune® 10 + IL-12 (40 µg)	≤ 4	128	638	388	194
Placebo	≤ 4	74	194	128	49
Control Ambiental	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4

¹ El número es significativo cuando se compara con el grupo de placebo.

Tabla 6
Resultados de valoración MAT de *L. Grippio*

Grupo	0 DPV 1	0 DPV 2	7 DPV 2	14 DPV 2	21 DPV 2
Duramune® 10 + IL-12 (10 µg)	≤ 4	11	2551 ²	2353 ²	1176 ²
Duramune® 10 + IL-12 (40 µg)	≤ 4	37 ²	2931 ²	2274 ²	1084 ²
Placebo ¹	≤ 4	6	215	337	215
Control ambiental	≤ 4	≤ 4	≤ 4	6	8

¹ La titulación de un perro es 1024 a 0 DPV 1 y se excluye del análisis.

² El Número es significativo cuando se compara con el grupo placebo.

Tabla 7
Resultados de valoración MAT de *L. ictero*

Grupo	0 DPV 1	0 DPV 2	7 DPV 2	14 DPV 2	21 DPV 2	28 DPV 2
Duramune® 10 + IL-12 (10 µg)	≤ 4	8	49	60	32	24
Duramune® 10 + IL-12 (40 µg)	≤ 4	14	105	86	42	32
Placebo	≤ 4	5	74	62	28	21
Control ambiental	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4

Tabla 8
Resultados de valoración MAT de *L. canicola*

Grupo	0 DPV 1	0 DPV 2	7 DPV 2	14 DPV 2	21 DPV 2
Duramune® 10 + IL-12 (10 µg)	≤ 4	6	256	194	64
Duramune® 10 + IL-12 (40 µg)	≤ 4	16	338	278	223
Placebo ¹	≤ 4	5	159	139	49
Control ambiental	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4

¹ La titulación de un perro es 1024 a 0 DPV 1 y se excluye del análisis

² El Número es significativo cuando se compara con el grupo placebo.

EJEMPLO 5

Efecto del adyuvante sobre inmunogenicidad de vacuna para gato

Para determinar cuando si la IL-12 humana recombinante puede intensificar la inmunogenicidad de una vacuna FIV-FeLV, la IL-12 se mezcla con virus de leucemia felina (FIV) y virus de inmunodeficiencia felina (FeLV) inactivados a 5 μ por dosis después de EMA-31[®], Neocryl[®] A640 y MVP[®] (una emulsión de aceite en agua de aceite mineral ligero, comercialmente disponible de Modern Veterinary Products, Omaha, NE) se agregan a la vacuna. La ruta de administración para la vacuna es intraperitonealmente. Un grupo de 20 gatitos, de 8 semanas de edad, se vacunan dos veces con la vacuna FIV-FeLV, otro grupo de 20 gatitos la misma edad se vacunan con la misma vacuna suplementada con IL-12. Tres semanas después del término de la vacunación, todos se desafían con FeLV virulento junto con 9 testigos de la misma edad. Los gatos desafiados se monitorean semanalmente para determinar viremia durante 15 semanas. Para monitorizar la viremia de los gatos desafiados para FeLV, muestras séricas

se analizan semanalmente para determinar la presencia de antígeno FeLV p27 usando un juego de reactivos para el análisis de antígeno IDEXX FeLV. Se considera un gato persistentemente infectado con FeLV cuando FeLV p27 se detecta en tres puntos de muestra consecutivos durante la semana 3 hasta la 12 después de la exposición al desafío. Todos los nueve testigos se infectaron persistentemente con FeLV. Cinco de cada 20 vacunados que recibieron la vacuna FIV-FeLV se infectaron persistentemente con FeLV mientras que solamente uno de 20 vacunados que recibieron la vacuna FIV-FeLV suplementada con IL-12 se infectaron persistentemente con FeLV. Este resultado indica que la combinación de IL-12 con EMA-31®, Neocryl® y MVP® puede utilizarse para intensificar la inmunogenicidad de vacunas FeLV.

En lo anterior, se ha proporcionado una descripción detallada de las modalidades particulares de la presente invención para propósitos de ilustración y no de limitación. Se ha de entender que todas las demás modificaciones, ramificaciones y equivalentes obvias por aquellos diestros en la técnica basándose en la descripción pretenden incluirse dentro del alcance de la invención como se reivindica.

REIVINDICACIONES

1. Una composición para intensificar la inmunogenicidad de una vacuna veterinaria, caracterizada porque comprende una cantidad farmacológicamente efectiva de un inmunorregulador y un inmunoadyuvante.

2. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque el inmunorregulador se selecciona a partir del grupo que comprende una citocina, un interferón, un factor de necrosis tumoral, un factor de transformación del crecimiento, un factor estimulador de colonias y una composición de los mismos.

3. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 2, caracterizada porque el inmunorregulador es una citocina.

4. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 3, caracterizada porque el inmunorregulador es interleucina-12.

5. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 4, caracterizada porque el inmunorregulador es una interleucina-12 homóloga de animal, recombinante de humano o recombinante de murino.

6. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 5, caracterizada porque

el inmunoadyuvante se selecciona a partir del grupo que comprende de saponina, un aceite metabolizable, un copolímero de bloque, un copolímero de etileno/maleico, un copolímero de ácido acrílico, una emulsión de copolímero de ácido acrílico, una emulsión de aceite mineral y una mezcla de los mismos.

7. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el inmunoadyuvante es saponina.

8. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el aceite metabolizable es escualeno o escualano.

9. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 8, caracterizada porque el aceite metabolizable es escualano.

10. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el copolímero de bloques es un copolímero de bloques de polioxipropileno-polioxi-etileno.

11. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el copolímero de etileno/maleico es un copolímero lineal de etileno/maleico anhidro con cantidades aproximadamente iguales de etileno/maleico anhidro de un peso molecular promedio ponderado de aproximadamente 75,000 a 100,000.

12. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el copolímero de ácido acrílico es una mezcla de estireno y un copolímero no coligado de ácido acrílico acuoso de ácido acrílico y ácido metacrílico.

13. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 12, caracterizada porque la mezcla se emulsiona.

14. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque la emulsión de aceite mineral es una emulsión de aceite en agua de aceite mineral ligero.

15. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el inmunoadyuvante es una mezcla de copolímero de bloques de polioxipropileno-polioxietileno y escualano.

16. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el inmunoadyuvante es una mezcla de copolímero lineal de etileno/maleico anhidro, con cantidades aproximadamente iguales de etileno/maleico anhidro y un peso molecular promedio ponderado de aproximadamente 75,000 a 100,000 y una emulsión de copolímero de ácido acrílico que comprende una mezcla emulsionada de estireno y un copolímero no coligado de ácido acrílico acuoso de ácido acrílico y ácido metacrílico.

17. La composición intensificadora de inmunogenicidad de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque el inmunoadyuvante es una mezcla de copolímero lineal de etileno/maleico anhídrido, con cantidades aproximadamente iguales de etileno y maleico anhídrido y un peso molecular promedio ponderado de aproximadamente 75,000 a 100,000, una emulsión de copolímero de ácido acrílico que contiene una mezcla emulsionada de estireno y un copolímero no coligado de ácido acrílico acuoso de ácido acrílico y ácido metacrílico y una emulsión de aceite mineral.

18. Una composición mejorada de vacuna veterinaria caracterizada porque comprende una cantidad inmunizante efectiva de un antígeno, un inmunorregulador, un inmunoadyuvante y un portador farmacéuticamente aceptable.

19. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 18, caracterizada porque el inmunorregulador se selecciona a partir del grupo que comprende una citocina, un interferón, factor de necrosis tumoral, factor transformante de crecimiento, factor estimulante de colonias y una combinación de los mismos.

20. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 19, caracterizada porque el inmunorregulador es una citocina.

21. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 20, caracterizada porque el inmunorregulador

es interleucina-12.

22. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 21, caracterizada porque el inmunorregulador es una interleucina-12 homóloga de animal, recombinante de humano o recombinante de murino.

23. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 22, caracterizada porque el inmunoadyuvante se selecciona a partir del grupo que comprende una saponina, aceite metabolizable, copolímero de bloques, copolímero de etileno/maleico, un copolímero de ácido acrílico, una emulsión de copolímero de ácido acrílico, una emulsión de aceite mineral y mezclas de los mismos.

24. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el inmunoadyuvante es saponina.

25. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el aceite metabolizable es escualeno o escualano.

26. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 25, caracterizada porque el aceite metabolizable es escualano.

27. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el copolímero de bloques es copolímero de bloques de polioxipropileno-polioxietileno.

28. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el copolímero de etileno/maleico es un copolímero lineal de etileno/maleico anhidro con cantidades aproximadamente iguales de etileno y maleico anhidro y un peso molecular promedio ponderado de aproximadamente 75,000 a 100,000.

29. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el copolímero de ácido acrílico es una mezcla de estireno y un copolímero no coligado de ácido acrílico acuoso de ácido acrílico y ácido metacrílico.

30. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 29, caracterizada porque la mezcla se emulsiona.

31. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque la emulsión de aceite mineral es una emulsión de aceite en agua de aceite mineral ligero.

32. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 27, caracterizada porque el inmunoadyuvante es una mezcla de copolímero de bloques de polioxipropileno-polioxietileno y un aceite metabolizable.

33. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 32, caracterizada porque el aceite metabolizable es escualano.

34. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el inmunoadyuvante es

una mezcla del copolímero de etileno/maleico anhídrido y una emulsión de copolímero de ácido acrílico.

35. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 34, caracterizada porque el inmunoadyuvante además comprende una emulsión de aceite mineral.

36. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 23, caracterizada porque el antígeno se selecciona a partir del grupo que comprende Virus Sincicial Respiratorio Bovino, virus herpes simplex tipo 1, virus de diarrea bovina, virus de parainfluenza-3, parvovirus canino, virus de parainfluenza canina, adenovirus canino tipo II, adenovirus canino, coronavirus canino, virus de la rabia, virus de inmunodeficiencia felina, virus de leucemia felina, coronavirus felino, Virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRS), virus de herpes aviar, *Chlamydia*, *Ehrlichia*, *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Mycoplasma*, *Borrelia*, *Leptospira*, *Coccidia*, *Hemosporidia*, *Amoebida*, *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Giardia*, *Histomonas*, *Coccidioides*, *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* y una combinación de los mismos.

37. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 36, caracterizada porque el antígeno es *Streptococcus equi* y el inmunoadyuvante es una saponina.

38. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 36, caracterizada porque el antígeno es el Virus Sincicial Respiratorio Bovino y el inmunoadyuvante es una mezcla del copolímero de bloques y el aceite metabolizable.

39. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 36, caracterizada porque el antígeno es *Ehrlichia canis* y el inmunoadyuvante es una mezcla del copolímero de etileno/ maleico y la emulsión de copolímero de ácido acrílico.

40. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 36, caracterizada porque el antígeno es una combinación de parvovirus canino, virus de parainfluenza canina, adenovirus canino tipo II, adenovirus canino, coronavirus canino, *Leptospira icterohemorrhagiae*, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa* y *Leptospira pomona* y el inmunoadyuvante es una mezcla del copolímero etileno/ maleico y la emulsión del copolímero de ácido acrílico.

41. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 36, caracterizada porque el antígeno es una combinación del virus de inmunodeficiencia felina y el virus de leucemia felina y el inmunoadyuvante es una mezcla del copolímero de etileno/maleico, emulsión de copolímero de ácido acrílico y la emulsión de aceite mineral.

42. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 18, caracterizada porque además comprende un

conservador.

43. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 18, caracterizada porque además comprende un adyuvante secundario.

44. La composición de vacuna de conformidad con la reivindicación 43, caracterizada porque el adyuvante secundario se selecciona a partir del grupo que comprende un estabilizador, un emulsionante, hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio, un regulador del pH, un tensioactivo, una liposoma, un adyuvante Iscom, un glicopéptido sintético, una carga, carboxipolimetileno, pared celular bacteriana, un derivado de pared celular bacteriana, vacuna, proteína de virus de sarampión, adyuvante de partícula subviral, toxina colérica, N,N-dioctadecil-N',N'-bis(2-hidroxietil)propandiamina, lípido A de monofosforilo, dimetildioctadecil- bromuro de amonio y mezclas los mismos.

myeth
100/24
110

TRADUCCION OFICIAL No. 2004-02-16-167 de un documento escrito en Inglés, la cual para efectos del presente lleva el sello personal de **Martha Lucia Arciniegas M.**, Traductora e Intérprete Oficial en virtud de la Res 1523 /88 del Ministerio de Justicia.

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
2. Este documento público ha sido firmado por **MARILYN L MITCHELL**
3. actuando como Notaria Pública de New Jersey
4. lleva el sello/estampilla de
MARILYN L MITCHELL, Notario

Certificado

5. en Trenton, New Jersey
6. el día 30 de enero, 2004
7. por John E. McCorman, CPA, Tesorero de New Jersey
8. No. **A189246**
9. Sello/Estampilla
10. Firma:

Según mi leal saber y entender esta es una traducción fiel y completa de su original en inglés de la cual se deja copia para futuras referencias.

Martha Lucia Arciniegas
Martha Lucia Arciniegas

MARTHA LUCIA ARCINEGAS M.
TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL
RESOLUCION 1523/88 MINISTERIO DE JUSTICIA

INSTITUTO
DE INVESTIGACIONES

205731
Martha Arciniegas
REVISOR: [illegible]
REVISOR: [illegible]
REVISOR: [illegible]

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

1: 13
[illegible]
[illegible]

[illegible]

DECLARACION JURADA

Yo, William H. Calnan, Secretario Asistente de Wyeth (antiguamente conocida como American Home Products Corporation), en virtud del presente certifico que la copia anexa ha sido comparada con la Cesión original (U.S.S.N. 10/243, 075) fechada octubre 16, 2002 de Hsien-Jue Chu a American Home Products Corporation y que esa copia es una copia auténtica tomada del original.

Para ser usada en Colombia

Dado este 29 de enero, 2004 en Madison, New Jersey, Estados Unidos de América.

Wyeth

(antiguamente conocida como
American Home Products Corporation

(fdo)

William H Calnan
Secretario Asistente

RECONOCIMIENTO NOTARIAL

Estado de New Jersey)

) ss:

Condado de Morris)

El día 29 de enero de 2004 compareció personalmente ante mí William H. Calnan, Secretario Asistente de Wyeth (antiguamente conocida como American Home Products Corporation), quien reconoció ante mí y a quien reconozco como la persona descrita en el presente y quien ejecutó el instrumento anterior y reconoció que él ejecutó el mismo.

(firma: ilegible)

Notario Público

[Sello de Notario Público]

Marylin L. Mitchell

Notario Público del Estado de New Jersey

La comisión expira el 6 de Feb 2005

Expediente No. AM100124

Patente

Para: ☒ Derechos de los E.U. y/o ☒ Extranjeros
Para: ☒ Solicitud de los E.U. o ☐ Patente de los E.U.
Para: ☒ Inventor (es) o ☐ Propietario actual.

Cesión de Invención

En consideración del pago por parte del CESIONARIO al CEDENTE de la suma de Un Dólar (\$1.00), recibo de la cual se reconoce por el presente y por otra contraprestación,

CEDENTE:

Nombre Completo del Inventor: HSIEN-JUE CHU
Residencia: Fort Dodge, IA
Dirección de correo 1506 13th Avenue North
Fort Dodge, IA 50501
Ciudadanía: Estados Unidos de América

en virtud del presente vende, cese y transfiere a

CESIONARIO WYETH
FIVE GIRALDA FARMS
MADISON, NJ 07940-0874

y a los sucesores, cesionarios y representantes legales del CESIONARIO todo el derecho, título e interés para los Estados Unidos y sus posesiones territoriales y en todos los países extranjeros, incluyendo todos los derechos para reivindicar prioridad, en y con la invención o cualquiera y todas las mejoras que son divulgadas en la solicitud no provisional para la Patente de Invención de los Estados Unidos, intitulada:

INTERLEUCINA-12. COMO ADJUVANTE DE VACUNA VETERINARIA

y la cual se encuentra en

- (a) ☐ Solicitud de Patente de los EE.UU. ejecutada en fecha par con el presente.
- (b) ☒ Solicitud de Patente Provisional de los EE.UU No 10/2433,075 registrada el 12 de Septiembre, 2002
- (c) ☐ Patente EE.UU. No. _____ registrada el _____
- (d) ☒ y cualquier equivalente legal de la misma en un país extranjero,

Incluyendo el derecho de reivindicar prioridad y en todas las Patentes de Invención, tanto en Estados Unidos como en el extranjero, que puedan ser obtenidas para dicha invención, o mejoras en la anterior solicitud o cualquier continuación, división, renovación o sustituto de la misma y en cualquier reemisión o extensión de dichas patentes.

El CEDENTE por el presente conviene que ninguna cesión, venta, acuerdo o gravamen que haya sido o será hecho o que se celebrará entrarla en conflicto con esta cesión.

El CEDENTE autoriza al CESIONARIO para hacer solicitudes y para recibir Patentes de Invención para dicha invención en cualquiera de dichos países en su propio nombre o en el nombre del CEDENTE, a su elección.

El CEDENTE conviene y acuerda ejecutar o procurar cualquier aseguramiento posterior necesario del título sobre dicha invención y cualquier Patente de Invención que pueda emitir por eso y, en cualquier momento, a solicitud y a expensas del CESIONARIO entregar cualquier testimonio en cualquier interferencia, litigio o procedimiento relacionado con ello y ejecutar todos los documentos que sean necesarios o deseables para perfeccionar el título sobre dicha invención o cualquier Patente de Invención que pueda otorgarse para ello al CESIONARIO, sus sucesores, cesionarios y representantes legales, y que, en cualquier momento, a solicitud y a expensas del CESIONARIO ejecutar cualquier continuación, continuación en parte, divisional, renovación o sustituto de la misma cualquier otra solicitud para la remisión, reexamen o extensión de cualquier Patente de Invención que pudiera ser garantizada para dicha invención o cualquier parte o partes del mismo, todas las solicitudes y Patentes de Invención

116



Reconocimiento

A los 16 días de octubre, 2002, compareció personalmente ante mí HSIEN-JUE CHU, quien reconoció ser y quien reconozco como la persona descrita en el

presente y quien ejecutó el instrumento anterior y reconoció que él ejecutó el mismo, de su propia voluntad y para los fines expresados.

(Firma: ilegible)

Notaria Pública

[Sello del Notario]

JULIE KOESTER

La Comisión Expira 22 Sep. 2003

118

APOSTILLE

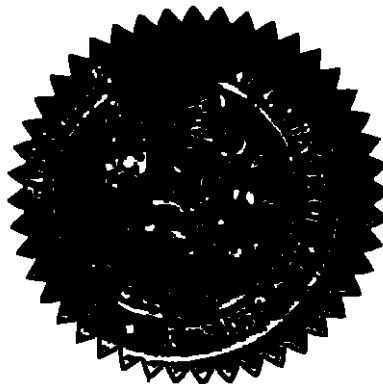
(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA
2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
MARILYN L MITCHELL
3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
MARILYN L MITCHELL, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 30TH DAY OF JANUARY 2004
7. BY: John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER
8. NO. A189246
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE

John E McCormac



AFFIDAVIT

I, William H. Calnan, Assistant Secretary, Wyeth (formerly known as American Home Products Corporation), do hereby certify that the attached copy has been compared with the original Assignment (U.S.S.N. 10/243,075) dated 16 October 2002 from Hsien-Jue Chu to American Home Products Corporation, and that the said copy is a true copy of the original.

To be used in Colombia.

Dated this 29th day of January 2004 at Madison, New Jersey, United States of America.

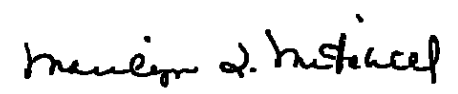
Wyeth
(formerly known as American Home
Products Corporation)

William H. Calnan
Assistant Secretary

ACKNOWLEDGMENT

State of New Jersey)
) SS:
County of Morris)

On this 29th day of January 2004 before me personally appeared William H. Calnan, Assistant Secretary, Wyeth (formerly known as American Home Products Corporation), to me known and known to me to be the individual described in and who executed the foregoing instrument, and he acknowledged to me that he executed the same.



Notary Public

MARILYN L. MITCHELL
NOTARY PUBLIC STATE OF NEW JERSEY
My Commission Expires February 6, 2005

PATENT

For: ☒ U.S. and/or ☒ Foreign Rights
Fr: ☒ U.S. Application or ☐ U.S. Patent
Fr: ☒ Inventor(s) or ☐ Present Owner

ASSIGNMENT OF INVENTION

In consideration of the payment by ASSIGNEE to ASSIGNOR of the sum of One Dollar (\$1.00), the receipt of which is hereby acknowledged, and for other good and valuable consideration,

ASSIGNOR:

Full Name of Inventor: HSIEN-JUE CHU
Residence: Fort Dodge, IA
Mailing Address: 1506 13th Avenue North
Fort Dodge, IA 50501
Country of Citizenship: United States of America

hereby sells, assigns and transfers to

ASSIGNEE: WYETH
FIVE GIRALDA FARMS
MADISON, NJ 07940-0874

and the successors, assigns and legal representatives of the ASSIGNEE the entire right, title and interest for the United States and its territorial possessions and in all foreign countries, including all rights to claim priority, in and to the invention or any and all improvements which are disclosed in the nonprovisional application for Letters Patent of the United States, entitled:

INTERLEUKIN-12 AS A VETERINARY VACCINE ADJUVANT

and which is found in:

- (a) ☐ U.S. patent application executed on even date herewith
- (b) ☒ U.S. Patent Application No. 10/243,075 filed on September 12, 2002

(c) [] U.S. Patent No. _____ issued on _____

(d) [X] and any legal equivalent thereof in a foreign country, including the right to claim priority

and in and to all Letters Patent, both United States and foreign, that may be obtained for said invention or improvements on the above application or any continuation, division, renewal or substitute thereof, and in any reissue, reexamination or extension of such patents.

ASSIGNOR hereby covenants that no assignment, sale, agreement or encumbrance has been or will be made or entered into which would conflict with this assignment.

ASSIGNOR authorizes ASSIGNEE to make applications for and to receive Letters Patent for said invention in any of said countries in its own name, or in my name, at its election.

ASSIGNOR covenants and agrees to execute or procure any further necessary assurance of the title to said invention and any Letters Patent which may issue therefor and, at any time upon the request and at the expense of ASSIGNEE, to deliver any testimony in any interference, litigation or proceeding related thereto and execute all papers that may be necessary or desirable to perfect the title to said invention or any Letters Patent which may be granted therefor in ASSIGNEE, its successors, assigns or other legal representatives, and, at any time upon the request and at the expense of ASSIGNEE, to execute any continuation, continuation-in-part, divisional, renewal or substitute thereof, and any application for the reissue, reexamination or extension of any Letters Patent that may be granted for said invention, or any other additional applications for Letters Patent for said invention or any part or parts thereof, all of which applications and any Letters Patent issuing thereon are hereby assigned to ASSIGNEE, and

122

Docket No. AM100124

to make all rightful oaths or declarations, and do all lawful acts requisite for procuring the same therein, without further compensation, but at the expense of ASSIGNEE, its successors, assigns or other legal representatives.

ASSIGNOR authorizes and requests the Commissioner of Patents to issue any and all Letters Patent of the United States for said invention, resulting from any of the aforesaid applications to said WYETH, as sole ASSIGNEE.

WITNESS my hand and seal this 16 day of October, 2002,

Hsien-Jue Chu L.S.
HSIEN-JUE CHU

ACKNOWLEDGEMENT

State of Iowa)
) ss.:
County of Webster)

On this 16th day of October, 2002, personally appeared before me HSIEN-JUE CHU, to me known, and known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he executed the same, of his own free will and for the purposes set forth.

[Signature]
Notary Public



125

Wye+13
100/124
123

TRADUCCION OFICIAL No. 2004-02-16-169 de un documento escrito en Inglés,
la cual para efectos del presente lleva el sello personal de **Martha Lucia
Arciniegas M.**, Traductora e Intérprete Oficial en virtud de la Res 1523 /88 del
Ministerio de Justicia.

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
2. Este documento público ha sido firmado por **MARILYN L MITCHELL**
3. actuando como Notaria Pública de New Jersey
4. lleva el sello/estampilla de
MARILYN L MITCHELL, Notario

Certificado

5. en Trenton, New Jersey
6. el día 30 de enero, 2004
7. por John E. McComan, CPA, Tesorero de New Jersey
8. No. **A189245**
9. Sello/Estampilla
10. Firma:

Según mi leal saber y entender esta es una traducción fiel y completa de su
original en inglés de la cual se deja copia para futuras referencias.


Martha Lucia Arciniegas

MARTHA LUCIA ARCINEGAS M.
TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL
RESOLUCION 1523/88 MINJUSTICIA

DECLARACION JURADA

Yo, William H. Calnan, Secretario Asistente de Wyeth (antiguamente conocida como American Home Products Corporation), en virtud del presente certifico que la copia anexa ha sido comparada con la Cesión original (U.S.S.N. 60/322,840) fechada febrero 11, 2002 de Hsien-Jue Chu a American Home Products Corporation y que esa copia es una copia auténtica tomada del original.

Para ser usada en Colombia

Dado este 29 de enero, 2004 en Madison, New Jersey, Estados Unidos de América.

Wyeth

(antiguamente conocida como
American Home Products Corporation)

(fdo)

William H Calnan
Secretario Asistente

RECONOCIMIENTO NOTARIAL

Estado de New Jersey)

) SS:

Condado de Morris)

El día 29 de enero de 2004 compareció personalmente ante mí William H. Calnan, Secretario Asistente de Wyeth (antiguamente conocida como American Home Products Corporation), quien reconoció ante mí y a quien reconozco como la persona descrita en el presente y quien ejecutó el instrumento anterior y reconoció que él ejecutó el mismo.

(firma: ilegible)

Notario Público

[Sello de Notario Público]

Marylin L. Mitchell

Notario Público del Estado de New Jersey

La comisión expira el 6 de Feb 2005

Expediente No. AM100124L

Patente

- Para: ☒ Derechos de los E.U. y/o ☒ Extranjeros
- Para: ☒ Solicitud de los E.U. o ☐ Patente de los E.U.
- Para: ☒ Inventor (es) o ☐ Propietario actual.

Cesión de Invención

En consideración del pago por parte del CESIONARIO al CEDENTE de la suma de Un Dólar (\$1.00), recibo de la cual se reconoce por el presente y por otra contraprestación,

CEDENTE:

Nombre Completo del Inventor: HSIEN-JUE CHU

Residencia: Fort Dodge, IA

Dirección de correo 1506 13th Avenue North

Fort Dodge, IA 50501

Ciudadanía: Estados Unidos de América

en virtud del presente vende, cese y transfiere a

CESIONARIO AMERICAN HOME PRODUCTS CORPORATION

FIVE GIRALDA FARMS

MADISON, NJ 07940-0874

y a los sucesores, cesionarios y representantes legales del CESIONARIO todo el derecho, título e interés para los Estados Unidos y sus posesiones territoriales y en todos los países extranjeros, incluyendo todos los derechos para reivindicar prioridad, en y con la invención o cualquiera y todas las mejoras que son divulgadas en la solicitud no provisional para la Patente de Invención de los Estados Unidos, intitulada:

INTERLEUCINA-12- COMO ADJUVANTE DE VACUNA VETERINARIA

y la cual se encuentra en

- (a) ☐ Solicitud de Patente de los EE.UU. ejecutada en fecha par con el presente.
- (b) ☒ Solicitud de Patente Provisional de los EE.UU No 60/322,840 . registrada el 17 de Septiembre, 2001
- (c) ☐ Patente EE.UU. No. _____ registrada el _____
- (d) ☒ y cualquier equivalente legal de la misma en un país extranjero,

Incluyendo el derecho de reivindicar prioridad y en todas las Patentes de Invención, tanto en Estados Unidos como en el extranjero, que puedan ser obtenidas para dicha invención, o mejoras en la anterior solicitud o cualquier continuación, división, renovación o sustituto de la misma y en cualquier reemisión o extensión de dichas patentes.

El CEDENTE por el presente conviene que ninguna cesión, venta, acuerdo o gravamen que haya sido o será hecho o que se celebrará entraría en conflicto con esta cesión.

El CEDENTE autoriza al CESIONARIO para hacer solicitudes y para recibir Patentes de Invención para dicha invención en cualquiera de dichos países en su propio nombre o en el nombre del CEDENTE, a su elección.

El CEDENTE conviene y acuerda ejecutar o procurar cualquier aseguramiento posterior necesario del título sobre dicha invención y cualquier Patente de Invención que pueda emitir por eso y, en cualquier momento, a solicitud y a expensas del CESIONARIO entregar cualquier testimonio en cualquier interferencia, litigio o procedimiento relacionado con ello y ejecutar todos los documentos que sean necesarios o deseables para perfeccionar el título sobre dicha invención o cualquier Patente de Invención que pueda otorgarse para ello al CESIONARIO, sus sucesores, cesionarios y representantes legales, y que, en cualquier momento, a solicitud y a expensas del CESIONARIO ejecutar cualquier continuación, continuación en parte, divisional, renovación o sustituto de la misma cualquier otra solicitud para la remisión, reexamen o extensión de cualquier Patente de Invención que pudiera ser garantizada para dicha invención o cualquier parte o partes del mismo, todas las solicitudes y Patentes de Invención

que se emitan de ello por el presente se ceden al CESIONARIO y hará todos los juramentos o declaraciones legales y hará todos los actos legales requeridos para procurar las mismas, sin más compensación, pero a expensas del CESIONARIO, sus sucesores, cesionarios u otros representantes legales.

El CEDENTE autoriza y solicita al Comisionado de Patentes para que emita cualquiera y todas las Patentes de Invención de los Estados Unidos para dicha invención, que resulte de cualquiera de las solicitudes anteriormente al mencionado AMERICAN HOME PRODUCTS CORPORATION, como único CESIONARIO.

EN FE DE LO CUAL, firmo y sello a los 11 días de febrero de 2002

HSIEN-JUE CHU

Reconocimiento

Estado de Iowa)

) SS:

Condado de Webster)

A los 11 días de febrero, 2002, compareció personalmente ante mí HSIEN-JUE CHU, quien reconoció ser y quien reconozco como la persona descrita en el

presente y quien ejecutó el instrumento anterior y reconoció que él ejecutó el mismo, de su propia voluntad y para los fines expresados.

(Firma: ilegible)

Notaria Pública

[Sello del Notario]

JULIE KOESTER

La Comisión Expira 22 Sep. 2003

131

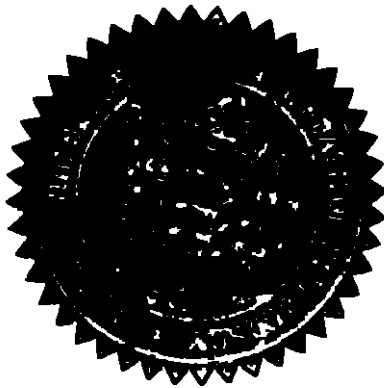
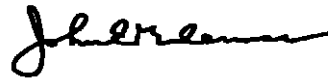
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA
2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
MARILYN L MITCHELL
3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
MARILYN L MITCHELL, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 30TH DAY OF JANUARY 2004
7. BY: John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER
8. NO. A189245
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



AFFIDAVIT

I, William H. Calnan, Assistant Secretary, Wyeth (formerly known as American Home Products Corporation), do hereby certify that the attached copy has been compared with the original Assignment (U.S.S.N. 60/322,840) dated 11 February 2002 from Hsien-Jue Chu to American Home Products Corporation, and that the said copy is a true copy of the original.

To be used Colombia.

Dated this 29th day of January 2004 at Madison, New Jersey, United States of America.

Wyeth
(formerly known as American Home
Products Corporation)


William H. Calnan
Assistant Secretary

ACKNOWLEDGMENT

State of New Jersey)
) SS:
County of Morris)

On this 29th day of January 2004 before me personally appeared William H. Calnan, Assistant Secretary, Wyeth (formerly known as American Home Products Corporation), to me known and known to me to be the individual described in and who executed the foregoing instrument, and he acknowledged to me that he executed the same.


Notary Public

MARILYN L. MITCHELL
NOTARY PUBLIC, STATE OF NEW JERSEY
My Commission Expires February 6, 2005

PATENT

For: ☒ U.S. and/or ☒ Foreign Rights
 For: ☒ U.S. Application or ☐ U.S. Patent
 For: ☒ Inventor(s) or ☐ Present Owner

ASSIGNMENT OF INVENTION

In consideration of the payment by ASSIGNEE to ASSIGNOR of the sum of One Dollar (\$1.00), the receipt of which is hereby acknowledged, and for other good and valuable consideration,

ASSIGNOR:

Full Name of Inventor: HSIEN-JUE CHU
 Residence: Fort Dodge, IA
 Mailing Address: 1506 13th Avenue North
 Fort Dodge, IA 50501
 Country of Citizenship: United States of America

hereby sells, assigns and transfers to

ASSIGNEE: AMERICAN HOME PRODUCTS CORPORATION
 FIVE GIRALDA FARMS
 MADISON, NJ 07940-0874

and the successors, assigns and legal representatives of the ASSIGNEE the entire right, title and interest for the United States and its territorial possessions and in all foreign countries, including all rights to claim priority, in and to the invention or any and all improvements which are disclosed in the provisional application for Letters Patent of the United States, entitled:

INTERLEUKIN-12 AS A VETERINARY VACCINE ADJUVANT

and which is found in:

- (a) ☐ U.S. patent application executed on even date herewith
- (b) ☒ U.S. Provisional Patent Application No. 60/322,840 filed on September 17, 2001

(c) [] U.S. Patent No. _____ issued on _____

(d) [X] and any legal equivalent thereof in a foreign country, including the right to claim priority and in and to all Letters Patent, both United States and foreign, that may be obtained for said invention or improvements on the above application or any continuation, division, renewal or substitute thereof, and in any reissue, reexamination or extension of such patents.

ASSIGNOR hereby covenants that no assignment, sale, agreement or encumbrance has been or will be made or entered into which would conflict with this assignment.

ASSIGNOR authorizes ASSIGNEE to make applications for and to receive Letters Patent for said invention in any of said countries in its own name, or in my name, at its election.

ASSIGNOR covenants and agrees to execute or procure any further necessary assurance of the title to said invention and any Letters Patent which may issue therefor and, at any time upon the request and at the expense of ASSIGNEE, to deliver any testimony in any interference, litigation or proceeding related thereto and execute all papers that may be necessary or desirable to perfect the title to said invention or any Letters Patent which may be granted therefor in ASSIGNEE, its successors, assigns or other legal representatives, and, at any time upon the request and at the expense of ASSIGNEE, to execute any continuation, continuation-in-part, divisional, renewal or substitute thereof, and any application for the reissue, reexamination or extension of any Letters Patent that may be granted for said invention, or any other additional applications for Letters Patent for said invention or any part or parts thereof, all of which applications and any Letters Patent issuing thereon are hereby assigned to ASSIGNEE, and

to make all rightful oaths or declarations, and do all lawful acts requisite for procuring the same therein, without further compensation, but at the expense of ASSIGNEE, its successors, assigns or other legal representatives.

ASSIGNOR authorizes and requests the Commissioner of Patents to issue any and all Letters Patent of the United States for said invention, resulting from any of the aforesaid applications to said AMERICAN HOME PRODUCTS CORPORATION, as sole ASSIGNEE.

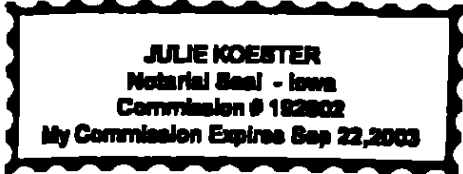
WITNESS my hand and seal this 11th day of February, 2002,

HSIEN-JUE CHU L.S.
HSIEN-JUE CHU

ACKNOWLEDGEMENT

State of Iowa)
County of Webster) ss.:

On this 11th day of February, 2002, personally appeared before me HSIEN-JUE CHU, to me known, and known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he executed the same, of his own free will and for the purposes set forth.



Julie Koester
Notary Public

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION [X]

MODELO DE UTILIDAD []

- ♦ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [X] 4
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [X] 4
- ♦ Descripción de la invención [X] 51
- ♦ Dibujos de ser estos pertinentes []
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas [X] 2

COMPLETA [X]

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ♦ Indicación de que se solicita el registro de 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 []

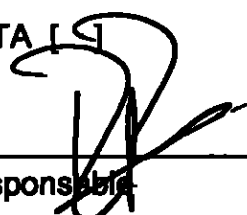
INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ♦ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ♦ Representación gráfica del esquema trazado []
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable 

Fecha _____

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia



Folio 140

2020
Bogotá DC

Doctor(a)
HUMBERTO RUBIO CAMACHO
Apoderado(a)
GRÜNENTHAL, GmbH.

REFERENCIA:	Radicación No.	04 - 23092
	Solicitud Internacional	PCT/US02/29229
	Fecha Inicio fase nacional	17/04/2004
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	416
	Oficio No.	589
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Unica de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase
Dado en Bogotá DC, 15 ABR 2004


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

202059