

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

Carlos R. Olarte
Juan G. Moure

Alexander Agudelo
Carlos A. Parra
Juan F. Acosta
Andrés Rincón
Dánica Guevara
Jesús Alvarado
Jaime C. Calderón
Jauricio Ávila
Jé J. Dangond
Gina Cáceres
Bella Herrera
Zaava Ravid
Andro Moure
Miguel F. Porras
Catalina Amaya
Laura M. Escobar
Lorena Andrade
Sergio Arboleda
Carolina Celis
Catalina Jiménez

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-076692- -00008-0000

Fecha: 2014-03-18 16:41:21 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 16

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Medellín

María C. Múnera
Eddie Manotas
Adrián Santamaría

Barranquilla

Gina De Echeona

Re: Expediente No. 12-076.692

Solicitud de patente de invención titulada: "ANTÍGENOS DE ACTINOBACILLUS
SUIS"

Solicitante: BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA, INC.

Nuestra Ref.: P2012/000050

RESPUESTA AL OFICIO No. 21120, NOTIFICADO POR FIJACIÓN EN LISTA No. 045

DE FECHA 12 DE NOVIEMBRE DE 2013

(PRIMER EXAMEN DE FONDO)

CARLOS R. OLARTE, mayor de edad y vecino de Bogotá, identificado tal como aparece al pie de mi firma, en mi carácter de apoderado de la sociedad solicitante, me permito manifestar lo siguiente ante el auto emanado por ese Despacho, dentro del plazo legal de prórroga previsto en el artículo 45 de la Decisión 486, en los siguientes términos:

1. En primer lugar, con el ánimo de brindar mayor claridad a la materia reivindicada, me permito presentar un **Capítulo Reivindicatorio Modificado**, que reemplaza en su totalidad al Capítulo Reivindicatorio presentado el 06 de agosto de 2012.

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

- se eliminan las Reivindicaciones 6 y 11 a 15;
- en la Reivindicación 1 se elimina la expresión "para proteger a un sujeto";
- las demás reivindicaciones, así como sus relaciones de dependencia se reenumeran de acuerdo a los cambios realizados.

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

2. a- La Examinadora levanta las siguientes observaciones acerca del Capítulo Reivindicatorio:

- la Reivindicación 6 no es clara puesto que hace referencia al uso de la composición al ser aplicada a un sujeto, lo cual no es patentable;
- la composición de las Reivindicaciones 1 a 15 debe estar definida por sus compuestos y las proporciones de los mismos, más no por su uso, por lo que sugiere eliminar dicha referencia a usos;
- el kit de las Reivindicaciones 14-15 contienen la misma información de las Reivindicaciones 11-13;
- las Reivindicaciones 5 y 10 hacen referencia a Emulsigen-D, lo cual es una marca registrada, esto no define a la composición ya que dicho producto puede cambiar de composición a pesar de conservar el mismo nombre, por lo que la Examinadora sugiere aclarar las características de dicho producto;
- el término “medio” de la Reivindicación 13 no es claro;
- las Reivindicaciones 1, 9 y 11 hacen referencia a un sobrenadante recogido de un cultivo de *A. suis*, al ser reivindicaciones de producto, deben estar definidas en términos de su proceso de fabricación, por lo que se debe caracterizar al sobrenadante y no en términos de la densidad óptica;
- la Reivindicación 14 no es clara ya que se refiere a un producto y proceso.

b- i) En primer lugar, respetuosamente llamo la atención de la Examinadora sobre las modificaciones realizadas al Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, tal como se explican en el punto 1 del presente memorial. En particular, la Reivindicación 1 ahora reclama una composición definida por sus componentes esenciales y no por un uso, puesto que la expresión “para proteger a un sujeto” fue eliminada del preámbulo de la misma.

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

Adicionalmente, considero superadas las objeciones formuladas por la Examinadora frente a las Reivindicaciones 6 y 11 a 15, toda vez que dichas reivindicaciones han sido eliminadas del Capítulo Reivindicatorio Modificado.

ii) Al respecto de las Reivindicaciones 5 y 10, me permito señalar que el excipiente comprendido en esta composición (Emulsigen®-D) ha sido proporcionado por el proveedor (MVP laboratories). En particular, dicho excipiente es de amplio uso dentro del campo de la medicina veterinaria y reconocido por el grueso de investigadores y personas medianamente versadas en la materia, dadas sus propiedades de inmunogenicidad, las cuales resultan esenciales dentro de la composición que se desea proteger toda vez que este adyuvante particularmente, es el que potencia el efecto inmunogénico del sobrenadante de *A. suis*.

Sin embargo, de acuerdo con la información disponible acerca de dicho producto, se debe saber que el Emulsigen®-D es una emulsión de aceite en agua, cuya composición exacta está protegida mediante un secreto comercial, así que para aclarar las dudas que se puedan suscitar acerca de la composición de la presente solicitud, me permito presentar la hoja de seguridad del Emulsigen®-D (Anexo 1), así como el boletín técnico (Anexo 2) en el que se mencionan generalidades del producto, tales como:

Emulsigen®-D es un adyuvante que potencia la respuesta inmune que puede ocasionar el antígeno dentro del organismo;

Emulsigen®-D es una emulsión de aceite en agua (O/W) libre de ingredientes de origen animal;

Emulsigen®-D es un adyuvante que se puede mezclar directamente con el antígeno, sin necesidad de algún procedimiento adicional;

Emulsigen®-D contiene bromuro de dimetildioctadecilamonio (DDA), el cual es un agente inmunoestimulante;

De acuerdo con lo anterior, me permito señalar que a pesar de ser una marca comercial protegida, el Emulsigen®-D es elaborado mediante técnicas estandarizadas de producción que garantizan que cada lote de Emulsigen®-D es consistente, uniforme y cumple con las especificaciones establecidas por el productor. Además, me permito hacer énfasis en que cualquier persona medianamente versada sabe, conoce y entiende el alcance y significado de dicha expresión y además el emulsigen es un componente esencial en la invención y dada su compleja

configuración estructural resulta imposible generalizarlo en términos simples y comunes como lo exige la Examinadora.

iii) En relación con las objeciones levantadas por la Examinadora acerca de las Reivindicaciones 1 y 9, me permito señalar que el Manual Andino de Patentes (MAP) permite que se planteen reivindicaciones de tipo “producto mediante proceso”, cuando dichos productos son novedosos e inventivos y no pueden ser definidos por otros medios.¹ En este caso, la composición que se reclama en la presente invención, particularmente, el sobrenadante obtenido a partir del cultivo de *A. suis* solamente puede ser caracterizado en términos de su densidad óptica, debido a que al ser obtenido a partir de un material complejo (cultivo celular), la cantidad de material biológico que pueda contener el cultivo inicial resulta imposible de determinar, sin embargo al aplicar dicho criterio de medida, se puede estimar de manera aproximada el contenido de material biológico presente en la composición.

No puede olvidarse que un inventor está en su derecho de reclamar protección para la totalidad de un concepto inventivo desarrollado, sin importar la amplitud de éste, siempre y cuando se conserve el principio de unidad de invención y no haya arte previo que afecte su patentabilidad. Es decir, para la presente invención, el concepto inventivo involucra al sobrenadante que se caracteriza mediante su proceso de obtención, de hecho, en caso de que el sobrenadante estuviese definido y caracterizado por parámetros fisicoquímicos, se limitaría de manera injustificada, toda vez que el material biológico presenta una alta variabilidad *per se*.

Lo anterior le permite al inventor reclamar una protección cualquier sobrenadante que se colecte de un cultivo de *A. suis* que haya crecido a una densidad óptica de entre DO₆₅₀ 0,650 y DO₆₅₀ 0,850, siempre y cuando la invención cumpla con los requisitos de patentabilidad establecidos por la Decisión 486, los cuales son plenamente cumplidos por la presente solicitud, como se explicará más adelante.

iv) Así, considero respetuosamente que el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto cumple con los requisitos de claridad y concisión establecidos en la Decisión 486, y a la luz del Manual Andino de Patentes (MAP) y la Guía de la SIC, permitiéndole a la persona medianamente versada en la materia comprender inequívocamente el alcance de la materia reclamada.

¹ Manual Andino de Patentes OMPI, EPO, Secretaría de la Comunidad Andina, 2004. Sección 4.6.8

4. a- La Examinadora establece los documentos “Molecular characterization of an RTX toxin determinant from *Actinobacillus suis*”² (D1) y “Efficacy of a cell extract from *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* serotype 1 against disease in swine”³ (D2), afectan el nivel inventivo de la presente solicitud.

i) La Examinadora sostiene que D1 divulga el sobrenadante de *A. suis* para un western blot en condiciones de cultivo de OD₆₅₀ 0,650, OD₆₅₀ 0,850, al igual que la importancia de las hemolisinas para las vacunas y la similitud entre *A. suis* y *A. pleuropneumoniae*.

De la misma manera, la Examinadora señala que D2 divulga el uso de un sobrenadante de *A. pleuropneumoniae* y el adyuvante.

En consecuencia, la Examinadora presente un cuadro comparativo de las características técnicas esenciales de la presente invención (Reivindicación 1) frente a las divulgaciones del arte previo:

Características esenciales	D1	D2
Composición inmunogénica que comprende:	Composición que comprende	Composición
El sobrenadante recogido de uno o varios cultivos de <i>A. suis</i>	Sobrenadante de <i>A. suis</i> en condiciones de cultivo (Pág. 2167).	Sobrenadante de <i>A. pleuropneumoniae</i>
Un adyuvante	Menciona implícitamente el uso de adyuvante (Pág. 2172). Uso de hemolisina	Adyuvante Emulsigen (Resumen, Pág. 358, 359, 364)

A partir del anterior cuadro, la Examinadora afirma que la diferencia entre la Reivindicación 1 de la presente solicitud y D1 consiste en que la composición reclamada por la presente invención comprende uno o más cultivos de *A. suis* y un adyuvante, mientras que la presente invención se diferencia de D2 en que el sobrenadante empleado es de *A. suis*.

La Examinadora sostiene que el arte previo divulga sobrenadantes para su uso en animales, lo cual sumado a la similitud entre *A. suis* y *A. pleuropneumoniae*, permitirían a una persona

² Burrows, Lori L., and Lo, Reggie Y. C. “Molecular Characterization of an RTX Toxin Determinant from *Actinobacillus suis*.” Infection and Immunity. American Society for Microbiology. Vol. 60, No. 6. Páginas 2166-2173. 1992., <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC257139/pdf/iai00030-0032.pdf>

³ Fedorka-Cray P.J., et al. “Efficacy of a cell extract from *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* serotype 1 against disease in swine.” Infection and Immunity. American Society for Microbiology. Vol. 58, No. 2. Páginas 358-365. 1990.

medianamente versada en la materia inferir sin mucho esfuerzo el uso de sobrenadantes como vacuna contra Actinibacillus, por lo cual la Reivindicación 1 (y sus dependientes) carece de nivel inventivo.

ii) Adicionalmente, la Examinadora resalta que la Reivindicación 7 reclama un “método para preparar la composición inmunógena que comprende:

- a) el sobrenadante recogido de uno o varios cultivos de A. suis cultivado entre OD₆₅₀ 0,650 y OD₆₅₀ 0,850;
- b) un adyuvante;

Que comprende: cultivar un cultivo de A. suis (...)”

Así las cosas, la Examinadora presente un cuadro comparativo de las características técnicas esenciales de la presente invención (Reivindicación 7) frente a las divulgaciones del arte previo:

Características esenciales	D1	D2
Método que comprende:	Método que comprende	Método que comprende
Cultivar un cultivo de A. suis	Cultivar un cultivo de A. suis (Pág. 2166)	Cultivar un cultivo de A. pleuropneumoniae (Pág. 358, Col. 2)
Recoger el sobrenadante	Recoger el sobrenadante (Pág. 2167)	Recoger el sobrenadante (Pág. 358)
Filtrar el sobrenadante	Filtrar el sobrenadante (Pág. 2167)	Filtrar el sobrenadante (Pág. 359)
Mezclar el filtrado con el adyuvante	No menciona	Mezclar el filtrado con un adyuvante Emulsigen (Pág. 359, Col. 1)

De acuerdo con los planteamientos anteriores, la Examinadora estima que toda vez que D1 y D2 ya divulgaban sobrenadantes para la protección de infecciones, sumado a la similitud entre A suis y A pleuropneumoniae, una persona medianamente versada en la materia podría inferir y utilizar sobrenadantes como una vacuna contra actinobacillus, por lo cual la Reivindicación 7 carece de nivel inventivo.

b- En respuesta a las afirmaciones de la Examinadora, respetuosamente me permito exponer los siguientes argumentos:

i) Si bien D1 se considera el arte previo más cercano a la presente invención, este documento no hace mención alguna a un sobrenadante obtenido a partir de un cultivo de A.

suis que haya crecido a una densidad óptica entre DO₆₅₀ 0.650 y DO₆₅₀ 0.850, al contrario, D1 hace referencia a una medición de la densidad óptica para determinar la cantidad de hemoglobina que se libera en la caracterización de la toxina RTX (lo que corresponde a un ensayo hemolítico), más no para caracterizar al cultivo de *A. suis*. (pág. 2167 de D1).

La diferencia entre la presente invención y D1, es que la presente proporciona una composición inmunógena que comprende el sobrenadante de un cultivo de *A. suis* junto con un adyuvante. El efecto técnico que se consigue mediante la composición aquí reclamada es una potenciada protección de los bronquios frente a una posible infección causada por *A. suis* frente a animales que no han sido tratados

En adición, D1 sugiere que los genes de la toxina RTX de *A. suis* tienen ciertas similitudes con los genes de *A. pleuropneumoniae*, lo cual evidentemente motivaría a una persona medianamente versada en la materia a utilizar el ADN extraído del sobrenadante para obtener a la toxina RTX, en vez de utilizar el sobrenadante completo, como ocurre en la presente invención.

Ahora, a pesar de que D1 menciona que la citolisina clonada de *A. suis* podría ser utilizada dentro de una vacuna para prevenir la pleoruneumonia, esta aproximación no puede ser tenida en cuenta ya que no hay evidencia alguna en D1 que demuestre la efectividad o aplicabilidad de dicha vacuna en el tratamiento o prevención de una infección mediada por *A. suis*.

Por el contrario, la presente invención, en la tabla 7b, a continuación (la cual se encuentra en la hoja sustituta de la página 37, que se presenta para corregir un error involuntario en la traducción y que encuentra soporte en la página 33 de la solicitud internacional WO2011/059950, correspondiente a la presente invención) muestra el efecto inesperado de inhibir totalmente el crecimiento y proliferación bacteriana en su totalidad frente a otros tratamientos:

Tabla 7b. Número de animales positivos para *A. suis* en porcentaje dentro de los grupos de tratamiento por aislamiento bacteriano.

Grupo	Tratamiento	Tráquea	Bronquios	*Bazo	*Meninges	*Sangre del corazón
1	Células Enteras	6,67% (1/15)	13,33% (2/15)	0,00% (0/15)	6,67% (1/15)	6,67% (1/15)
2	Sobrenadante	6,67% (1/15)	0,00% (0/15)	0,00% (0/15)	0,00% (0/15)	0,00% (0/15)

3	OMP	6,67% (1/15)	13,33% (2/15)	6,67% (1/15)	0,00% (0/15)	0,00% (0/15)
4	APP	20,00% (3/15)	20,00% (3/15)	0,00% (0/15)	6,67% (1/15)	0,00% (0/15)
5	Desafío	20,00% (3/15)	26,67% (4/15)	6,67% (1/15)	6,67% (1/15)	6,67% (1/15)
*6	Estricto	6,67% (1/15)	0,00% (0/15)	0,00% (0/15)	0,00% (0/15)	0,00% (0/15)

De acuerdo con lo anterior, se observa que en ninguno de los animales que recibió la composición reclamada por la presente invención (grupo de tratamiento # 2) se da la proliferación de *A. suis* en los bronquios posterior al tratamiento, frente a los animales que recibieron los demás tratamientos, inclusive frente al grupo que recibió únicamente al agente patógeno (grupo de desafío #4).

Esto no hubiese resultado obvio para una persona medianamente versada en la materia, ya que a partir de D1 no se hubiese podido elucidar y desarrollar una composición basada en un sobrenadante de *A. suis* y un excipiente, que tuviese un efecto sobre los bronquios de los animales tratados al momento de ser inoculados con un agente patógeno, como bien lo propone, demuestra y desarrolla la presente invención.

ii) En cuanto a D2, me permito estimar que este documento divulga una vacuna que contiene un extracto celular de *A. pleuropneumoniae* mezclado con el adyuvante Emulsigen, sin embargo, a pesar de esta divulgación, D2 no enseña ni mucho menos sugiere la posibilidad de utilizar un sobrenadante de *A. suis* dentro de una composición inmunogénica.

De hecho, ninguno de los documentos citados por la Examinadora, enseña ni propone de manera clara que los sobrenadantes de cultivos celulares de *A. suis*, puedan tener un efecto inmunogénico y protector en sujetos (animales) que reciban una composición que los contenga.

De igual manera, el arte previo no motivaría a una persona medianamente versada en la materia a desarrollar una composición, donde los sobrenadantes se recogen de cultivos de *A. suis* que presentan una densidad óptica de OD₆₅₀ 0,650, OD₆₅₀ 0,850 junto con un adyuvante para conformar una vacuna eficiente y eficaz frente a una posible infección debida a *A. suis*, tal como se reclama en la presente invención.

En conclusión, partiendo de las enseñanzas divulgadas por el arte previo, una persona medianamente versada en la materia no podría haber obtenido la composición reclamada y

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

protegida por la presente solicitud, por el contrario, se obtendrían preparaciones totalmente distintas a la composición de la invención aquí referida, debido a que al combinar a D1 con D2 se obtendría una metodología y por ende una composición muy distintos en cuanto a formulación y actividad, que ni siquiera contemplaría el uso de sobrenadantes de *A. suis* dentro de la misma. Por lo cual, la presente invención ciertamente tiene y reviste nivel inventivo.

En este punto vale la pena señalar que el Manual Andino de Patentes establece que para que pueda negarse la existencia de nivel inventivo, es necesario no solamente que la combinación de las enseñanzas pueda hacerse, sino también que exista una sugerencia o razón tal, que lleve al técnico con conocimientos medios a combinar las enseñanzas de los documentos⁴. Además, el Manual Andino de Patentes también establece que las invenciones en el campo de la química tienen nivel inventivo cuando la materia reclamada tiene características **estructurales inesperadas** (no derivable por la persona medianamente versada en la materia) o cuando presentan un **efecto técnico inesperado o mejorado impredecible del arte previo**⁵. Por tales razones, **nada** en el arte previo sugiere ni enseña la materia de la presente invención con las características esenciales aquí reclamadas, ni mucho menos sus propiedades inesperadas en relación con los efectos sorprendentes e inesperados aquí evidenciados, por lo que la presente invención reviste nivel inventivo sobre el arte previo citado.

5. Finalmente, me permito informar que para el concepto inventivo comprendido en la presente solicitud, ha sido otorgado hasta el momento el privilegio de patente en Estados Unidos (US 8,563,005).

Si bien es cierto que las concesiones de patentes en oficinas de otros países no son vinculantes en el sentido que obliguen a la SIC a tomar una decisión en el mismo sentido, considero que dichas concesiones sugieren el cumplimiento de los requisitos de patentabilidad de la materia reivindicada, ya que los criterios de evaluación y estudio aplicados para concluir la aceptación de dichas patentes resultan equivalentes a los que la SIC debe emplear.

6. Por todo lo anterior, considero que las objeciones presentadas por la Examinadora en su primer examen de fondo, han sido resueltas y por consiguiente solicito respetuosamente que el

⁴ Manual Andino de Patentes. (2004). Sección 10.2.1 Ejemplo 1 (disponible en <http://www.comunidadandina.org/public/patentes.pdf>).

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

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

Despacho tenga por cumplidos los requisitos de patentabilidad y proceda con la concesión de la patente.

Atentamente,



CARLOS R. OLARTE

C.C. No. 79.782.747 de Bogotá

T.P. 74.295

Anexos:

- Capítulo Reivindicatorio Modificado;
- Hoja Sustituta Página 37.
- Anexo 1: Hoja de Seguridad del Excipiente Emulsigen®-D;
- Anexo 2: Boletín Técnico del excipiente Emulsigen®-D.

71

CAPITULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

(Primer Examen de Fondo)

1. Una composición inmunógena contra una infección de *Actinobacillus suis*, que comprende:
 - a) el sobrenadante recogido de uno o varios cultivos de *A. suis* cultivado entre OD₆₅₀ 0,650 y OD₆₅₀ 0,850; y
 - b) un adyuvante.
2. La composición inmunógena de la Reivindicación 1, en la que el sobrenadante está esencialmente libre de células de *A. suis*.
3. La composición inmunógena de la Reivindicación 1, en la que el sobrenadante está inactivado.
4. La composición inmunógena de la Reivindicación 3, en la que el sobrenadante es inactivado con formalina.
5. La composición inmunógena de cualquiera de las Reivindicación 1, en la que el adyuvante es Emulsigen ®-D.
6. Un método para preparar la composición inmunógena la Reivindicación 1 que comprende:
 - a) cultivar un cultivo de *Actinobacillus suis* entre OD₆₅₀ 0,650 y OD₆₅₀ 0,850;
 - b) recoger un sobrenadante del cultivo;
 - c) filtrar el sobrenadante para producir un filtrado; y
 - d) mezclar el filtrado con un adyuvante.
7. El método de la Reivindicación 6, que comprende además inactivar el sobrenadante.
8. El método de la Reivindicación 7, en el que el sobrenadante es inactivado antes de mezclar con el adyuvante.
9. El método de la Reivindicación 6, en el que el adyuvante es Emulsigen ®-D.

12

Tabla 7b. Número de animales positivos para *A. suis* en porcentaje dentro de los grupos de tratamiento por aislamiento bacteriano.

Grupo	Tratamiento	Tráquea	Bronquios	*Bazo	*Meninges	*Sangre del corazón
1	Células Enteras	6,67%(1/15)	13,33%(2/15)	0,00%(0/15)	6,67%(1/15)	6,67%(1/15)
2	Sobrenadante	6,67% (1/15)	0,00% (0/15)	0,00%(0/15)	0,00%(0/15)	0,00% (0/15)
3	OMP	6,67% (1/15)	13,33%(2/15)	6,67%(1/15)	0,00%(0/15)	0,00% (0/15)
4	APP	20,00%(3/15)	20,00%(3/15)	0,00%(0/15)	6,67%(1/15)	0,00% (0/15)
5	Desafío	20,00%(3/15)	26,67%(4/15)	6,67%(1/15)	6,67%(1/15)	6,67% (1/15)
*6	Estricto	6,67% (1/15)	0,00% (0/15)	0,00%(0/15)	0,00%(0/15)	0,00% (0/15)

*El grupo de tratamiento 6 y los Parámetros de Bazo, Meninges y Sangre de Corazón no fueron parte del análisis estadístico.

^aLas comparaciones de los Grupos 1-4 y 5 son estadísticamente significativas y diferentes (p <0,05, Prueba Exacta de Fisher cuando sea apropiado).

La recuperación de *A. suis* en cada una de las áreas objetivo era la más alta en el grupo de tratamiento 5 (exposición) comparada con los otros grupos (1-4). El porcentaje más alto de recuperación de *A. suis* fue encontrado en la amígdala seguido del pulmón. La recuperación de *A. suis* fue baja en los parámetros bazo, meninges y sangre de corazón con sólo un rendimiento de recuperación máximo del 6,67 % entre los grupos de tratamiento. Los controles estrictos, grupo 6, tuvieron de tres a diez cerdos positivos para *A. suis* en el tejido nasal, y un cerdo positivo para el tejido traqueal. Se encontraron diferencias estadísticas (p <0,05) en el tejido nasal comparando los grupos 3 (omp) y 4 (APP) con el grupo 5 (exposición).

Se aislaron otros organismos respiratorios y bacterianos comunes durante el proceso de cultivo. *Bordetella sp*, estaba en números altos en todos los grupos así como las bacterias de estreptococos alfa y beta y *Pasteurella multocida*. Otros organismos aislados en números muy bajos fueron *Arcanobacterium pyrogenes*, *E. coli*, *Staphylococcus sp*, *Enterococcus sp*, *Proteus*, hongos azules y *Pastunella sp*.

4. Serología

La sangre se usó en los días de estudio 0, 7, 14, 21, 28, 34 y 41 del estudio. Se realizaron ensayos de transferencia Western en sueros recogidos de los grupos de tratamiento 1, 2, 3, y 4 los días 0 y 34 del estudio para medir las inmunorreactividad respecto a las fracciones. Cada grupo de tratamiento consistió en tres grupos reunidos, que consistieron en 5 cerdos de dicho grupo de tratamiento. Los ensayos de transferencia Western mostraron una seroconversión detectable para las fracciones de

Anexo 13



Dedicated to Quality, Committed to Service

Material Safety Data Sheet

Material: EMULSIGEN-D

SECTION 1

Manufacturer's Name:	MVP Laboratories, Inc.	Emergency Phone #:	800-856-4648
Address:	4805 G Street	Information Phone #:	402-331-5106
	Omaha, NE 68117	Date Prepared:	6/27/03

SECTION 2 - Hazardous Ingredients / Identity Information

Hazardous Components (Specific Chemical Identity: Common Name(s))	OSHA PEL
---	----------

The Emulsigen-D formulation is a Trade Secret. No OSHA PEL or ACGIH TLV levels have been set. It contains an ingredient at $\leq 1.3\%$ that has been reported to cause skin and eye irritation and allergic skin reactions in its pure form (100% concentration).

Upon request of the customer, this product may contain up to 30mcg/ml gentamicin sulfate and/or 0.74 grams per liter formaldehyde as a preservative. Formaldehyde is a known carcinogen.

SECTION 3 - Physical / Chemical characteristics

Boiling Point::	Unknown	Specific Gravity: (Water = 1)	.916 - .969
Vapor Pressure:	NA	Evaporation Rate:	NA
Melting Point::	NA	Solubility in water:	Miscible
Appearance and Odor: White liquid with a slight pungent odor.			

SECTION 4 - Fire and Explosion Hazard Data

Flash Point:	Unknown
Special Fire Fighting Procedures:	None
Extinguishing Media:	Water or dry chemical
Unusual Fire/explosion hazards:	None

74

SECTION 5 - Reactivity Data

Stability:	Stable
Incompatibility:	None reported or known.
Hazardous Decomposition or Byproducts:	None reported or known.
Hazardous Polymerization:	Will not occur.
Conditions to avoid:	None reported or known.

SECTION 6 - Health Hazard Data / First Aid

Health hazards are not anticipated for persons using this product as directed under field conditions.
In case of accidental exposure, follow the instructions below:

EYE CONTACT:	May cause irritation. Flush with copious amounts of water for 15 minutes.
SKIN CONTACT:	Wash thoroughly with soap and water.
INGESTION:	May cause nausea.
INJECTION:	Injection may cause severe reaction at the site. Contact a physician.

In any case of exposure, if irritation persists, contact a physician.

CARCINOGENICITY:	NTP	IARC
	No	No

Medical Conditions Generally Aggravated by Exposure: None Reported or Known.

SECTION 7 - Precautions for Safe Handling and Use.

Spill and Leak Information:	Contain the spill and take up with an absorbent material. Place in a clean, dry container for later disposal. Wash hands and affected clothing.
Waste / Disposal Method:	Comply with all applicable federal, state, and local regulations concerning spill reporting, waste handling, and waste disposal.
Other Precautions:	For veterinary use only. Avoid accidental injections.

SECTION 8 - Control Measures

Respiratory Protection:	None required.
Ventilation:	Local exhaust.
Protective Gloves:	Recommended. (Latex)
Eye Protection:	Safety Glasses with side shields.

The information contained herein is believed to be correct, but is offered only as a guide. MVP Laboratories, Inc. disclaims any warranty, expressed or implied, and shall not be held liable for any direct, incidental, or consequential damages resulting from reliance on the information.



EMULSIGEN®-D

(Emulsified Oil-in-Water Adjuvant + Immunostimulant)

Technical Bulletin

Summary of Key Points:

- ☐ **EMULSIGEN® based**
- ☐ **Formulated with DDA**
(now approved by the EU)
- ☐ **Free of animal origin ingredients**
- ☐ **Ready to add to antigen -- no further processing required**
- ☐ **Manufactured using components on Annex II, EC Regulation No. 470/2009 and/or various GRAS lists**
- ☐ **Known to stimulate humoral and T-cell response**

EMULSIGEN®-D is a unique, oil-in-water emulsion, free of animal origin ingredients. Its milky-white appearance creates a smooth, uniform mixture when added to your veterinary antigens.

EMULSIGEN®-D is designed to be mixed directly with vaccine antigens, without any further processing, to enhance the immunogenicity of the finished product.

EMULSIGEN®-D contains uniformly dispersed, micron size oil droplets which ensure maximum emulsion stability and decreased viscosity. Micron size oil droplets also increase the surface area available to antigens, reducing the quantity of oil required in the final vaccine. The technology used in manufacturing EMULSIGEN®-D reduces the undesirable side effects associated with other oil-in-water adjuvants, while eliciting the rapid and strong immune response.

EMULSIGEN®-D incorporates dimethyldioctadecylammonium bromide (DDA), a liposome adjuvant by itself, as an additional immunostimulant for weak antigens.

Oil-in-water emulsified adjuvants act by forming a mobile depot of antigen which can target immune effector cells. The depot effect with slow release improves the presentation of antigen thus providing a significant enhancement of the immune response and vaccine efficacy. The added DDA is a known T-cell immune stimulator.

EMULSIGEN®-D may be used in combination with aluminum hydroxide or other MVP adjuvants. Contact MVP Laboratories for procedures.

INFORMATION ABOUT EMULSIGEN®-D

Immune Response: EMULSIGEN®-D has the potential to elicit higher levels of humoral antibody, more rapid onset of immunity, and enhanced protection with a single vaccine dose as compared with conventional aluminum based adjuvants. EMULSIGEN®-D is an excellent adjuvant for bacterial, mycoplasma, viral, subunit or parasite antigens.

Animal Safety: EMULSIGEN®-D is less likely to cause adverse injection site reactions than conventional oil adjuvants.

Stability: EMULSIGEN®-D utilizes HLB (Hydrophile-Lipophile Balance) technology to maximize stability of the oil-in-water emulsion. Use of HLB technology results in oil droplets of uniform micron size, thereby eliminating problems related to undesirable product separation and poor syringeability.

Syringeability: Vaccines containing up to 50% EMULSIGEN®-D easily pass through a 25 gauge needle at 10°C (50°F).

Uniformity: The use of highly-skilled operators and standardized manufacturing procedures ensures that each batch of EMULSIGEN®-D will be consistent, uniform, and in compliance with established specifications.

Preservatives: EMULSIGEN[®]-D is normally manufactured with formaldehyde (<740 ppm) and/or gentamicin (30 mcg/ml) as preservatives. Other preservative combinations are available. It may also be formulated without preservatives, if desired.

Ingredients: Each lot of EMULSIGEN[®]-D is manufactured to the highest standards using the finest components available. All ingredients meet USP, NF, EC Regulation No. 470/2009 or equivalent specifications and/or have been approved for vaccine use by USDA and regulatory agencies in numerous countries.

EMULSIGEN[®]-D is free of animal origin ingredients. All components, including the containers, are sterilized prior to use to ensure purity of the final product.

Testing: Each ingredient contained in EMULSIGEN[®]-D must meet stringent in-house parameters for identity and consistency. Key ingredients are tested for purity prior to use. Each lot of final product is thoroughly tested to ensure that it is free of viable bacteria and fungi. To assure batch to batch quality and consistency each lot is tested for viscosity, stability, pH, and formaldehyde concentration (where applicable). Macroscopic and microscopic appearance is also carefully monitored during the manufacturing process. Other testing, including mouse safety, may be conducted at the customer's request.

Storage: EMULSIGEN[®]-D may be stored at 4°C-30°C (39°F-86°F). Temperature extremes should be avoided.

Packaging: EMULSIGEN[®]-D is available in 10 and 20 liter containers. Other sizes can be supplied to meet each customer's needs. EMULSIGEN[®]-D can also be provided in sterile bags.

INSTRUCTIONS FOR USE

- 1) For most bacterial and viral antigens, we recommend that EMULSIGEN[®]-D be used at 10% to 20% (v/v).
- 2) EMULSIGEN[®]-D should be thoroughly mixed prior to use. The adjuvant can be added to inactivated or modified live antigen and mixed using standard equipment.
- 3) After thorough mixing, the product is ready to fill. Mixing should continue throughout the filling process.
- 4) Products containing EMULSIGEN[®]-D may be administered intramuscularly or subcutaneously in a wide variety of animals.

Copyright 2012 by MVP Laboratories, Inc. all rights reserved



4805 G Street • Omaha, NE 68117 USA

Telephone: (402) 331-5106 Telefax: (402) 331-8776
mvplabs@mvplabs.com / www.mvp-technologies.com

Discover the Difference!