



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

07-34174

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO: "VACUNAS MULTIVALENTES CONTRA LA INFLUENZA AVIAR"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL: A61K 39/145, A61K 39/39, A61K 39/295

71. SOLICITANTE: WYETH

DOMICILIO: NUEVA JERSEY, ESTADOS UNIDOS

74. APODERADO: ALVARO CORREA ORDOÑEZ
T.P.No.20.281

22. BOGOTA, D.C., ABRIL 4, 2007



FM 07-05-2007
Publicación

PETITORIO

00001

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad 07-034174 -00000-0000
Fec 2007-04-04 14 51 09 Dep 2020 NUECREACIONES
Tra 11 PATENTEIYII
Eve 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios 155

adicación

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE :

①

☒ X

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☒ X

Capítulo I

☐

Capítulo II.

②

SOLICITANTE

(71)

Nombre WYETH

Dirección Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940-0874 Estados Unidos de América

Nacionalidad o Domicilio Nueva Jersey, Estados Unidos

Lugar de Constitución Delaware, Estados Unidos

Teléfono

Fax

E-Mail

IDENTIFICACION

C C

☐

NIT

☐

C E

☐

Otro

☐

Cual

Número

③

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre. ALVARO CORREA ORDOÑEZ

Dirección Avenida 82 No 10-62 Piso 6

Teléfono 634 1500

Fax 376 2211

E-Mail office.bogota@bakernet.com

IDENTIFICACION

C C

☒ X

NIT

☐

C E

☐

Otro

☐

Cual

Número

79 143 366 de

Usaquén

TP 20 281

④

INVENTOR (ES)

(72)

Nombre. PLANA-DURAN, Juan, VILA-QUINTANA, Rut, TARRES-CALL, Jordi y KUMAR, Mahesh.

Dirección Costes De Simo s/n, E-17811 Santa Pau (Girona), España, Carrer Mulleres 11, 2n 2a, E-17800 Olot (Girona), España, Passeig de la Generalitat Numero 21, 2n 1a, E-17820 Banyoles (Girona), España y 2910 22nd Avenue North, Fort Dodge, Iowa 50501, Estados Unidos, respectivamente.

Nacionalidad o Domicilio Española, Española, Española y Estadounidense

⑤

PCT (85)

Solicitud Internacional No PCT/US2005/035925

Fecha 06-OCT-05

Publicación Internacional No WO 2006/041978

Fecha 20-ABR-06

⑥

Título (54)

VACUNAS MULTIVALENTES CONTRA LA INFLUENZA AVIAR

⑦

Clasificación Internacional (51)

A61K 39/145, A61K 39/39, A61K 39/295

⑧

Prioridad

SI

☒ X

NO

☐

(33) País de Origen

US

US

(32) Fecha

07-OCT-04

31-ENE-05

(31) Número de Solicitud

60/616.707

60/648 459

⑨

Comprobante de pago No. 07-19694

Fecha 08-MAR-07

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página

10

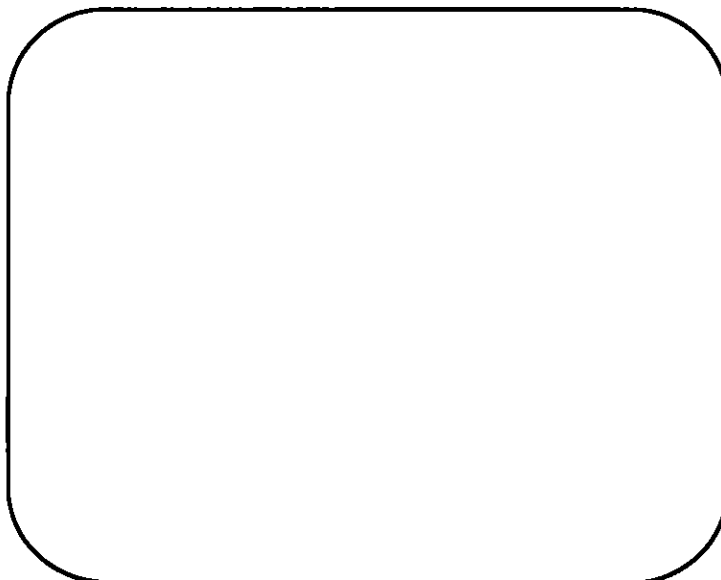
ANEXOS

nnnn2

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

11

FIGURA CARACTERISTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALVARO CORREA ORDOÑEZ

FIRMA:

C.C. 79.143.386 de Usaquén

T.P. 20.281

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

00003

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 19,694
FECHA : MARZO 8 DE 2007

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad 07-034174-00000-0000
Fec 2007-04-04 14 51 09 Dep 2020 NUECREACIONES
Tra 11 PATENTEYII
Eve 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios 155

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
RAISBECK LARA RODRIGUEZ	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	54689077	08/03/2007	93,306,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN
			TOTAL : \$ 482,000.00

SON: CUATROCIENTOS OCHENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

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: MICHELLE L MC GOWAN
3. Actuando en su capacidad de Notario Público de New Jersey
4. Tiene el sello/estampilla de MICHELLE L MC GOWAN, NOTARIO

Certificado en

5. En Trenton, New Jersey
6. el día 13 de Marzo de 2007
7. Por Bradley Abelow, TESORERO DE NEW JERSEY
8. No. A285577
9. Sello/Estampilla ESTADO DE NEW JERSEY – SELLO DEL ESTADO
10. Firmado por Bradley Abelow

Sellos: en alto relieve dorado

SELLO DEL ESTADO – ESTADO DE NEW JERSEY

ES FIEL TRADUCCIÓN DEL ORIGINAL

Resolución
6884/78
Minjusticia

Gloria Paredes Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL
ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

AM101861 Colombia

00005

Ralsbeck, Lara, Rodríguez & Rueda

Av. 82 No. 10-62 6th Floor Bogotá, Colombia

NTT: 860.068.840-3 Tel: +571 6341500 Fax: +571 3762211 www.bakernet.com

PODER DE ABOGADO

La abajo firmada,

WYETH

con oficinas en

Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940, Estados Unidos de América

declara por el presente que otorga a

ALVARO CORREA-ORDOÑEZ y/o OLGA GEORGETTE OTERO y/o
RICARDO METKE y/o JUAN PABLO CONCHA

Todos miembros de la firma de abogados Rasibeck, Lara, Rodríguez & Rueda, con domicilio en la Av. 82 No. 10-62 Piso 6 en Bogotá D. C., Colombia, mientras ellos sean miembros del bufete de abogados, poder especial amplio y suficiente con respecto a la solicitud(es) de patente en Colombia basada(s) en PCT/US2005/035925 y titulada

"VACUNAS MULTIVALENTES CONTRA LA INFLUENZA AVIAR", y para obtener la protección de patente de la misma, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera autoridades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de la(s) patente(s) de invención basada(s) en la mencionada solicitud de patente, incluyendo presentación de traspasos, cambio de nombre o dirección, cancelación voluntaria; y defensa en oposiciones, cancelaciones, nulidades, la tutela, y en general procesos civiles, penales, administrativos relacionados con estos derechos.

Igualmente, ratifico todo lo actuado en derecho hasta el momento en nombre de esta compañía por cualquiera de los mencionados apoderados en los casos mencionados.

Dado y firmado en

A los 27 días del mes de febrero de 2007

WYETH

William H. Calnan, Assistant Secretary

Resolución
6894/78
Minjusticia

Clemente Parades Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

AM101861 Colombia

Rasibeck, Lara, Rodríguez & Rueda
Av. 82 No. 10-62 6th Floor Bogotá, Colombia

MT: 886.888.840-3 Tel: +571 8341800 Fax: +571 3762211 www.larajuridico.com

nnnn5

PODER DE ABOGADO

La abajo firmada,

WYETH

con oficinas en

Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940, Estados Unidos de América

declara por el presente que otorga a

ALVARO CORREA-ORDOÑEZ y/o OLGA GEORGETTE OTERO y/o RICARDO
METKE y/o JUAN PABLO CONCHA

Todos miembros de la firma de abogados Rasibeck, Lara, Rodríguez & Rueda, con domicilio en la Av. 82 No. 10-62 Piso 6 en Bogotá D. C., Colombia, mientras ellos sean miembros del bufete de abogados, poder especial amplio y suficiente con respecto a la solicitud(es) de patente en Colombia basada(s) en PCT/US2005/035825 y titulada "VACUNAS MULTIVALENTES CONTRA LA INFLUENZA AVIAR", y para obtener la protección de patente de la misma, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera autoridades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de la(s) patente(s) de invención basada(s) en la mencionada solicitud de patente, incluyendo presentación de traspasos, cambio de nombre o dirección, cancelación voluntaria; y defensa en oposiciones, cancelaciones, nulidades, la tutela, y en general procesos civiles, penales, administrativos relacionados con estos derechos.

Igualmente, ratifico todo lo actuado en derecho hasta el momento en nombre de esta compañía por cualquiera de los mencionados apoderados en los casos mencionados.

Dado y firmado en

A los 27 días del mes de febrero de 2007

WYETH

William H. Calnan, Assistant Secretary

Resolución
8894/78
Minjusticia

Consuelo Parada Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

CERTIFICACIÓN NOTARIAL

A los 27 días del mes de Febrero
de 2007 el suscrito Notario

DA FE**1. Que William H. Calnan**

mayor y domiciliado en

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

suscribió de su puño y letra el documento que antecede.

2. Que conozco al otorgante y que éste tiene capacidad legal para el otorgamiento.**3. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de
SUBSECRETARIO**

de la persona jurídica WYETH

4. Que la persona jurídica WYETH

con sede en Five Giralda Faros, Madison, New Jersey 07940, Estados Unidos de América

está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se otorga el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.

5. Que el otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta y que ésta es legítima.**6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los
siguientes documentos auténticos que al efecto se me
exhibieron y que menciono específicamente con expresión de
sus fechas y de su origen o procedencia:**

Actas DE La reunión de la Junta Directiva de fecha 27 de Abril de 2006

Firmado Notario Público

MICHELLE . MCGOWAN

Notario Público de New Jersey

No. 2108903

Calificado en Morris County

Comisión expira en Feb. 9 de 2011

Sello en alto relieve ilegible

Resolución
6694/78
Minjusticia

Clemencia Parades Tejada
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

APOSTILLE

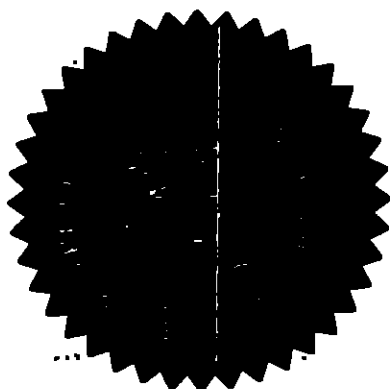
(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

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

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 13TH DAY OF MARCH 2007
7. BY: Bradley Abelow, NEW JERSEY TREASURER
8. NO. A285577
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE

Bradley Abelow



Raisbeck, Lara, Rodríguez & Rueda
Av. 82 No. 10 - 62 6th Floor
Bogotá, Colombia

NT: 800.088.840-3
Tel: +57 1 634 1500
Fax: +57 1 378 2211
www.bakermt.com

POWER OF ATTORNEY

The undersigned.

WYETH

with offices at

Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940,
United States of America

declares that it hereby grants to

**ALVARO CORREA-ORDOÑEZ and/or
OLGA GEORGETTE OTERO and/or
RICARDO METKE and/or
JUAN PABLO CONCHA**

I members of the law firm Raisbeck, Lara, Rodríguez & Rueda, with domicile at Av. 82 No. 10 - 62, 6th floor, of Bogotá D. C., Colombia, and for so long as they remain members of the law firm, a full and sufficient power of attorney with respect to Colombian patent application(s) based on PCT/US2005/035925 and entitled "MULTIVALENT AVIAN INFLUENZA VACCINES" and to obtain patent protection therefor, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, especially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of a patent(s) based upon said patent application(s), including filing of assignments, change of name or address, voluntary cancellation; and defending oppositions, cancellations, nullity, writ mandamus, and in general the civil, penal, and administrative processes relating to those rights.

I hereby ratify all lawful actions previously taken on behalf of this company by the aforementioned attorneys with respect to the mentioned matters.

Done and subscribed in

On the 27th day of February of 2007

WYETH


William H. Calnan, Assistant Secretary

PODER DE ABOGADO

La abajo firmada,

WYETH

con oficinas en

Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940,
Estados Unidos de América

declara por el presente que otorga a

**ALVARO CORREA-ORDOÑEZ y/o
OLGA GEORGETTE OTERO y/o
RICARDO METKE y/o
JUAN PABLO CONCHA**

Todos miembros de la firma de abogados Raisbeck, Lara, Rodríguez & Rueda, con domicilio en la Av. 82 No. 10 - 62 Piso 6 en Bogotá D. C., Colombia, para tan largo como ellos se quedan miembros de dicho bufete de abogados, poder especial amplio y suficiente con respecto a la solicitud(es) de patente en Colombia basada(s) en PCT/US2005/035925 y titulada "VACUNAS MULTIVALENTES CONTRA LA INFLUENZA AVIAR", y para obtener la protección de patente de la misma, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera autoridades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de la(s) patente(s) de invención basada(s) en la mencionada solicitud de patente, incluyendo presentación de traspaños, cambio de nombre o dirección, cancelación voluntaria; y defensa en oposiciones, cancelaciones, nulidades, la tutela, y en general procesos civiles, penales, administrativos relacionados con estos derechos.

Igualmente, ratifico todo lo actuado en derecho hasta el momento en nombre de esta compañía por cualquiera de los mencionados apoderados en los casos mencionados.

Dado y firmado en

A los 27 días del mes de febrero de 2007

Firma de la persona que firma el Poder

NOTARIAL CERTIFICATION

On this 27 day of February
2007, the undersigned Notary

CERTIFIES

1. That William H. Calnan

of legal age and located at

Five Giralda Farms, Madison, New Jersey 07940 U.S.A.

set his hand on the foregoing document.

That the grantor is to me personally known and that he/she has legal capacity to execute the instrument.

3. That the grantor has executed the foregoing document as

Assistant Secretary

of the judicial person WYETH

4. That the judicial person WYETH
having its office in

Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940,
United States of America

is duly organized, has present legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

5. That the grantor has in fact the referred to authority and that his/her representation is legal.

6. That I have based certifications 3, 4 and 5 above on the following authentic documents for such purpose exhibited to me and which I mention specifically, giving their dates and their origin or source: The minutes from the Board of Directors Meeting dated April 27, 2006.

CERTIFICACION NOTARIAL

A los 27 días del mes de febrero
de 2007, el suscrito Notario

DA FE

- 1 Que William H. Calnan

mayor y domiciliado en

Five Giralda Farms, Madison, New
Jersey 07940 estados unidos de América
suscribió de su puño y letra el documento que antecede.

2. Que conozco al otorgante y que éste tiene capacidad legal para el otorgamiento.

- 3 Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de

Subsecretario

de la persona jurídica WYETH

- 4 Que la persona jurídica WYETH
con sede en

Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940,
Estados Unidos de América

está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se otorga el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.

- 5 Que el otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta y que ésta es legítima.

6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y que menciono específicamente con expresión de sus fechas y de su origen o procedencia:

Actas de la reunión de Junta Directiva de fecha 27 de abril de 2006

Notary Public

Michelle L. McGowan
MICHELLE L. MCGOWAN

Notary Public, State of New Jersey
No. 2108903

Qualified in Morris County
Commission Expires Feb. 9, 2011

El Notario Público

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: BARBARA A. KIELY
3. Actuando en su capacidad de Notario Público de New Jersey
4. Tiene el sello/estampilla de BARBARA A. KIELY, NOTARIO

Certificado en

5. En Trenton, New Jersey
6. el día 13 de Marzo de 2007
7. Por Bradley Abelow, TESORERO DE NEW JERSEY
8. No. A285568
9. Sello/Estampilla ESTADO DE NEW JERSEY – SELLO DEL ESTADO
10. Firmado por Bradley Abelow

Sellos: SELLO DEL ESTADO – ESTADO DE NEW JERSEY

ES FIEL COPIA Y TRADUCCIÓN DEL ORIGINAL

Resolución
6694/78
Minjusticia

Clemencia Paredes Tejada
TRADUCTORA OFICIAL

 ENGLISH - FRENCH - SPANISH
 ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, Michelle L. McGowan, Asociado de Legalización de Wyeth, certifico por la presente que la copia adjunta ha sido comparada con la CESIÓN original (para U.S.S.N. 60/848,459 y cualquier equivalente legal en un país extranjero, para la invención titulada: "VACUNAS MULTIVALENTES CONTRA LA INFLUENZA AVIAR" fechado Abril 5 DE 2005 de Mahesh Kumar a Wyeth; y que tal copia es una copia verdadera del original.

Fechado el día 26 de Febrero de 2007, en Madison, New Jersey, Estados Unidos de América.

Por Wyeth
Firmado
Michelle L. Gowan
Asociado de Legalización

PARA SER USADO EN COLOMBIA

CERTIFICACIÓN

Estado de New Jersey)

Condado de Morris)

En este día 26 de Febrero de 2007, compareció personalmente ante mí Michelle L. McGowan, de Wyeth, a quien conozco y sé que es el individuo descrito y quien firmó la declaración de arriba, y me confirmó que ella había firmado la misma.

Firmado

Barbara A. Klely
Notario Público

Sellos:

- 1) Sello impreso que dice:
Barbara A. Klely ID 33893
Notario Público, Estado de New Jersey
Mi Comisión expira el 20 de Junio de 2009
- 2) Sello en alto relieve que dice:
ILEGIBLE

Resolución
6694/78
Minjusticia

Gloriana Paredes Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL
ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

Cesión de Invención

Teniendo en cuenta el pago hecho por el CESIONARIO al CEDENTE de la cantidad acordada, que por la presente se declara haber recibido satisfactoriamente, los CEDENTES de la lista siguiente:

- (1) **Nombre completo del Inventor:** Juan PLANA-DURAN
Domicilio: Carrer de les Costes de Simo sin, 17811 Santa Pau (Girona), Spain
Ciudadanía: España
- (2) **Nombre completo del Inventor:** Rut VILA-QUINTANA
Domicilio: Carrer de Mulleres 11, 2n 2a, 17800 Olot (Girona), España
Ciudadanía: España
- (3) **Nombre completo del Inventor:** Jordi TARRES-CALL
Domicilio: Passeig de la Generalitat, 21, 2n 1a, 17820 Banyoles (Girona) España
Ciudadanía: España
- (4) **Nombre completo del Inventor:** Mahesh KUMAR
Domicilio: 2910 22nd Avenue North - Fort Dodge, Iowa 50501
Ciudadanía: United States of America
- (5) **Nombre completo del Inventor:**
- (6) **Nombre completo del Inventor:**

por la presente Vendemos, Cedemos, transferimos al CESIONARIO

WYETH
5 Giralda Faros
Madison, New Jersey 07940

Resolución
6884/78
Minjusticia

Clemencia Paredes Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

Rótulo No: AM-101861L2 Patente

y a los sucesores, designados y representantes legales del CESIONARIO todos los derechos, títulos e intereses para los Estados Unidos y sus posesiones territoriales, y para todos los países extranjeros, incluyendo todos los derechos para reclamar prioridad, en y para la Invención titulada:

VACUNAS MULTIVALENTES CONTRA INFLUENZA AVIAR

las cuales se encuentran en:

- (a) X Solicitud US No. 60/848,459 radicada el 31 de Enero de 2005
 (b) X Patente U. S. No. emitida en:

o Yo/Nosotros, el CEDENTE que firma abajo, por la presente autoriza y pide inserción del número de solicitud y fecha de radicación, cuando se conozcan,

[verificar también si se están cediendo solicitudes extranjeras)

(c) y cualquier equivalente legal en cualquier país extranjero,

incluyendo el derecho a reclamar prioridad, incluyendo cada una y todas las mejoras reveladas allí, y en y para todas las Concesiones de Patente (Letters Patent) que se vayan a otorgar para dicha invención, por la solicitud arriba o por cualquier subsiguiente radicación provisional, no provisional, continuación, divisional, renovación, o sustituto de ésta; y en cuanto a Concesiones de Patentes (Letters Patent) , para cualquier re-emisión o re-examen de ésta.

El CEDENTE se compromete a no hacer ninguna cesión, venta, contrato o gravamen que pueda estar en conflicto con esta cesión.

El CEDENTE autoriza al CESIONARIO a hacer solicitudes y a recibir Concesiones de Patente (Letters Patent) por concepto tal invención en cualquiera de los países mencionados, en su propio nombre, o a nombre del CEDENTE.

El CEDENTE se compromete a y conviene en ejecutar o procurar cualquier otra seguridad necesaria del título para tal invención y de cualquier Concesión de Patente (Letters Patent) que pueda ser consiguientemente otorgada; y, en cualquier momento, a solicitud del CESIONARIO testificar en cualquier interferencia, litigio, o actuación procesal relacionada; y a ejecutar todos los papeles que sean necesarios o deseables para perfeccionar el título a tal invención o a cualquier Concesión de Patente (Letters Patent) que pueda ser otorgada al CESIONARIO, sus sucesores, cesionarios u otros representantes legales; y, en cualquier momento, a solicitud y costo del CESIONARIO, se compromete a ejecutar cualquier continuación, continuación parcial, divisional, renovación o sustitución pertinente de estos; y en cuanto a las Concesiones de Patente (Letters Patent) y cualquier re-emisión o re-examen de estas, o cualquier otra solicitud adicional de Concesión de Patentes para tal invención o parte de ella, tales solicitudes y cualquier Concesión de Patente (Letters Patent) son cedidas por la presente al CESIONARIO; y se compromete a hacer las declaraciones o testificaciones bajo juramento requeridas, y todos los actos legales que sean requisito para procurar éstas, sin compensación adicional, pero a costa del CESIONARIO, sus sucesores, designados, o cualesquier otros representantes legales.

El CEDENTE autoriza y solicita al Comisionado de Patentes emitir cada una y todas las Concesiones de Patentes (Letters Patent) de los Estados Unidos para tal invención resultantes de las solicitudes anteriormente mencionadas a su CESIONARIO.

Rótulo No: AM101861 L2

Firmado _____
Mahesh KUMAR

Fecha Abril 5 de 2005

CERTIFICACIÓNEstado de Iowa
Condado de Webster

En este día, 5 de Abril de 2005 compareció personalmente ante mí Mahesh KUMAR a quien yo conozco como la misma persona descrita y quien ejecutó el instrumento anterior y declaró que él había ejecutado el mismo, a libre voluntad y para los efectos establecidos aquí.

Firmado

Ilegible

Notario Público

Sello: SELLO NOTARIAL

HEATHER FARREL

Comisión No. 224758

Mi comisión expira Septiembre 27 de 2005

Resolución
8894/78
Minjusticia

Clemencia Paredes Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

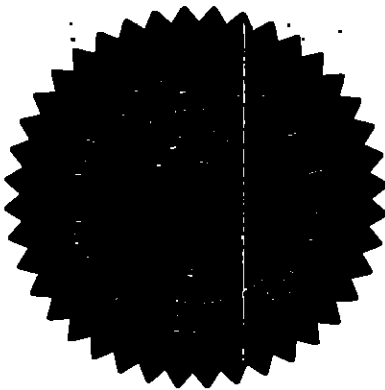
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

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

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 13TH DAY OF MARCH 2007
7. BY: Bradley Abelow, NEW JERSEY TREASURER
8. NO. A285568
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE

*Bradley Abelow*

AM101861 L2

AFFIDAVIT

I, Michelle L. McGowan, Legalization Associate of Wyeth, do hereby certify that the attached copy has been compared with the original Assignment (for U.S.S.N. 60/648,459 and any legal equivalent thereof in a foreign country, for the invention entitled: "Multivalent Avian Influenza Vaccines") dated April 5, 2005 from Mahesh Kumar to Wyeth and that the said copy is a true copy of the original.

Dated this 26th day of February, 2007, at Madison, New Jersey, United States of America.

Wyeth


Michelle L. McGowan
Legalization Associate

TO BE USED IN COLOMBIA

ACKNOWLEDGMENT

State of New Jersey)
)
County of Morris)

On this 26th day of February, 2007, before me personally appeared Michelle L. McGowan, Legalization Associate of Wyeth, 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

Barbara A. Kiely ID. 33893
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires June 20, 2009

Assignment of Invention

In consideration of the payment by ASSIGNEE to ASSIGNOR of good and valuable consideration, the receipt of which is hereby acknowledged,

ASSIGNOR:

(1) Full Name of Inventor: **Juan PLANA-DURAN**
Residence: **Carrer de les Costes de Simo s/n, 17811 Santa Pau (Girona), Spain**
Citizenship: **Spain**

(2) Full Name of Inventor: **Rut VILA-QUINTANA**
Residence: **Carrer de Mulleres 11, 2n 2a, 17800 Olot (Girona), Spain**
Citizenship: **Spain**

(3) Full Name of Inventor: **Jordi TARRES-CALL**
Residence: **Passeig de la Generalitat, 21, 2n 1a, 17820 Banyoles (Girona), Spain**
Citizenship: **Spain**

(4) Full Name of Inventor: **Maheesh KUMAR**
Residence: **2910 22nd Avenue North - Fort Dodge, Iowa 50501**
Citizenship: **United States of America**

(5) Full Name of Inventor:
Residence:
Citizenship:

(6) Full Name of Inventor:
Residence:
Citizenship:

hereby sells, assigns and transfers to ASSIGNEE:

Wyeth
Five Giralda Farms
Madison, New Jersey 07940

and the successors, assigns and legal representatives of the ASSIGNEE his 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 entitled:

MULTIVALENT AVIAN INFLUENZA VACCINES

and which is found in

- (a) ☒ U.S. Application No. 60/648,459 filed on January 31, 2005
(b) ☐ U.S. Patent No. issued on:

- ☐ I/we the ASSIGNOR signing below, hereby authorize and request insertion above of the application number and filing date, when they become known,

[Check (c) if foreign application(s) is also being assigned]

- (c) ☒ and any legal equivalent thereof in a foreign country.

Including the right to claim priority, including any and all improvements disclosed therein, and in and to all Letters Patent to be obtained for said invention by the above application or any subsequently filed provisional, nonprovisional, continuation, divisional, renewal, extension, or substitute thereof, and as to Letters Patent any reissue or re-examination thereof.

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 ASSIGNOR'S 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 therefore and to, at any time, upon the request and at the expense of ASSIGNEE 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 therefore in ASSIGNEE, its successors, assigns or other legal representatives, and that to, at any time, upon the request and at the expense of ASSIGNEE execute any continuations, continuations-in-part, divisional, renewal or substitute thereof, and as to Letters Patent and reissue or re-examination thereof, 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 will 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 its ASSIGNEE.

00020

Juan PLANA-DURAN

Date

ACKNOWLEDGMENT

State of _____ }
County of _____ } ss:

On the _____ day of _____ 2005, Juan PLANA-DURAN personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.

Notary Public

Rut VILA-QUINTANA

Date

ACKNOWLEDGMENT

State of _____ }
County of _____ } ss:

On the _____ day of _____ 2005, Rut VILA-QUINTANA personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.

Notary Public

Date

ACKNOWLEDGMENT

State of _____ **ss:**
County of _____

On the day of 2005, Jordi TARRES-CALL personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.

Notary Public

Mahesh K.
Mahesh KUMAR

Date April 5, 2005

ACKNOWLEDGMENT

State of Iowa)
County of Webster) ss:

On the 5 day of April 2005, Mahesh KUMAR personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.



Heather Farrell
Notary Public

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: BARBARA A. KIELY
3. Actuando en su capacidad de Notario Público de New Jersey
4. Tiene el sello/estampilla de BARBARA A. KIELY, NOTARIO

Certificado en

5. En Trenton, New Jersey
6. el día 13 de Marzo de 2007
7. Por Bradley Abelow, TESORERO DE NEW JERSEY
8. No. A285569
9. Sello/Estampilla ESTADO DE NEW JERSEY – SELLO DEL ESTADO
10. Firmado por Bradley Abelow

Sellos: SELLO DEL ESTADO – ESTADO DE NEW JERSEY

ES FIEL COPIA Y TRADUCCIÓN DEL ORIGINAL

Resolución
6884/78
Minjusticia

Clemencia Ruedes Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, Michelle L. McGowan, Asociado de Legalización de Wyeth, certifico por la presente que la copia adjunta ha sido comparada con la CESIÓN original (para U.S.S.N. 60/648,459 y cualquier equivalente legal en un país extranjero, para la invención titulada: "VACUNAS MULTIVALENTES CONTRA LA INFLUENZA AVIAR" de fecha Marzo 18 de 2005 de Juan Plana-Durán y Rut Vila-Quintana y Jordi Tarres-Call a Wyeth; y que tal copia es una copia verdadera del original.

Fecha el día 26 de Febrero de 2007, en Madison, New Jersey, Estados Unidos de América.

Por Wyeth
Firmado
Michelle L. Gowan
Asociado de Legalización

PARA SER USADO EN COLOMBIA

CERTIFICACIÓN

Estado de New Jersey)

Condado de Morris)

En este día 26 de Febrero de 2007, compareció personalmente ante mí Michelle L. McGowan, de Wyeth, a quien conozco y sé que es el individuo descrito y quien firmó la declaración de arriba, y me confirmó que ella había firmado la misma.

Firmado

Barbara A. Kiely
Notario Público

Sellos:

- 1) Sello Impreso que dice:
Barbara A. Kiely ID 33893
Notario Público, Estado de New Jersey
Mi Comisión expira el 20 de Junio de 2009
- 2) Sello en alto relieve que dice:
BARBARA A. KIELY
NOTARIO PÚBLICO
NEW JERSEY
- 2) Sello en alto relieve ilegible

Resolución
6684/78
Minjusticia

Clemencia Paredes Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

Rótulo No: AM101861 L2 Patente

Cesión de Invención

Teniendo en cuenta el pago hecho por el CESIONARIO al CEDENTE de la cantidad acordada, que por la presente se declara haber recibido satisfactoriamente, los CEDENTES de la lista siguiente:

- (1) Nombre completo del Inventor: Juan PLANA-DURAN
Domicilio: Carrer de les Costes de Simo s/n, 17811 Santa Pau
(Girona), España Ciudadanía: España
- (2) Nombre completo del Inventor: Rut VILA-QUINTANA
Domicilio: Carrer de Mulleres 11, 2n 2a, 17800 Olot
(Girona), España
Ciudadanía: España
- (3) Nombre completo del Inventor: Jordi TARRES-CALL
Domicilio: Passeig de la Generalitat, 21, 2n 1a, 17820 Banyoles
(Girona), España
Ciudadanía: España
- (4) Nombre completo del Inventor: Mahesh KUMAR
Domicilio: 2910 22nd Avenue North - Fort Dodge,
Iowa 50501
Ciudadanía: United States of America

por la presente Vendemos, Cedemos, y Transferimos al CESIONARIO

WYETH
5 Giralda Faros
Madison, New Jersey 07940

Resolución
6894/78
Minjusticia

Gloria Fariñas Tejada
TRADUCTORA OFICIAL
ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

Firmado _____
Juan PLANA-DURÁN

Fecha Marzo 18 de 2005

CERTIFICACIÓN

En este día, Marzo 18 de 2005 compareció personalmente ante mí Juan PLANA-DURÁN a quien yo conozco como la misma persona descrita y quien ejecutó el instrumento anterior y declaró que él había ejecutado el mismo, a libre voluntad y para los efectos establecidos aquí.

Firmado

Illegible

Notario Público

Sello: SELLO NOTARIAL

NOTARIA DE D. ANGELA ARREGUI LABORDA

OLOT

Resolución
6694/78
Minjusticia

Glennia Parades Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL
ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

Rótulo No: AM101861 L2 Patente

Firmado

Rut VILA-QUINTANA

Fecha Marzo 18 de 2005

27
NR021

CERTIFICACIÓN

En este día, 18 de Marzo de 2005 compareció personalmente ante mí Juan Rut VILA-QUINTANA a quien yo conozco como la misma persona descrita y quien ejecutó el instrumento anterior y declaró que él había ejecutado el mismo, a libre voluntad y para los efectos establecidos aquí.

Firmado

Ilegible

Notario Público

Sello: SELLO NOTARIAL

NOTARIA DE D. ANGELA ARREGUI LABORDA

OLOT

CesiónNuevaSolic-provisional.dot - Rev 2/04

Pág 3 of 4

Cesión de Invención
Solicitud Provisional

Resolución
6694/78
Minjusticia

Clara Parades Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

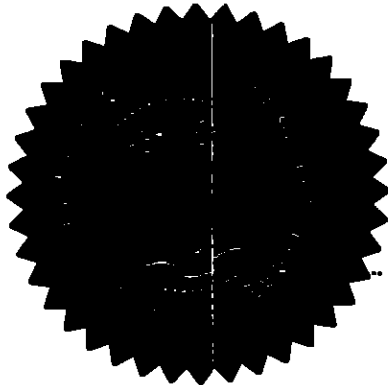
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

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

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 13TH DAY OF MARCH 2007
7. BY: Bradley Abelow, NEW JERSEY TREASURER
8. NO. A285569
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



Bradley Abelow

AM101861 L2

AFFIDAVIT

I, Michelle L. McGowan, Legalization Associate of Wyeth, do hereby certify that the attached copy has been compared with the original Assignment (for U.S.S.N. 60/648,459 and any legal equivalent thereof in a foreign country, for the invention entitled: "Multivalent Avian Influenza Vaccines") dated March 18, 2005 from Juan Plana-Duran, Rut Vila-Quintana and Jordi Tarres-Call to Wyeth and that the said copy is a true copy of the original.

Dated this 26th day of February, 2007, at Madison, New Jersey, United States of America.

Wyeth

Michelle L. McGowan
Michelle L. McGowan
Legalization Associate

TO BE USED IN COLOMBIA

ACKNOWLEDGMENT

State of New Jersey)
)
County of Morris)

On this 26th day of February, 2007, before me personally appeared Michelle L. McGowan, Legalization Associate of Wyeth, 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.

Barbara A. Klely ID. 33893
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires June 20, 2009

Barbara A. Klely
Notary Public

000000

Assignment of Invention

In consideration of the payment by ASSIGNEE to ASSIGNOR of good and valuable consideration, the receipt of which is hereby acknowledged,

ASSIGNOR:

(1) Full Name of Inventor: **Juan PLANA-DURAN**
Residence: **Carrer de les Costes de Simo s/n, 17811 Santa Pau (Girona), Spain**
Citizenship: **Spain**

(2) Full Name of Inventor: **Rut VILA-QUINTANA**
Residence: **Carrer de Mulleres 11, 2n 2a, 17800 Olot (Girona), Spain**
Citizenship: **Spain**

(3) Full Name of Inventor: **Jordi TARRES-CALL**
Residence: **Passeig de la Generalitat, 21, 2n 1a, 17820 Banyoles (Girona), Spain**
Citizenship: **Spain**

(4) Full Name of Inventor: **Mahesh KUMAR**
Residence: **2910 22nd Avenue North - Fort Dodge, Iowa 50501**
Citizenship: **United States of America**

(5) Full Name of Inventor:
Residence:
Citizenship:

(6) Full Name of Inventor:
Residence:
Citizenship:

hereby sells, assigns and transfers to ASSIGNEE:

Wyeth
Five Giralda Farms
Madison, New Jersey 07940

and the successors, assigns and legal representatives of the ASSIGNEE his 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 entitled:

00001

MULTIVALENT AVIAN INFLUENZA VACCINES

and which is found in

- (a) ☒ U.S. Application No. 60/648,459 filed on January 31, 2005
(b) ☐ U.S. Patent No. Issued on:

- ☐ I/we the ASSIGNOR signing below, hereby authorize and request insertion above of the application number and filing date, when they become known,

[Check (c) if foreign application(s) is also being assigned]

- (c) ☒ and any legal equivalent thereof in a foreign country,

Including the right to claim priority, including any and all improvements disclosed therein, and in and to all Letters Patent to be obtained for said invention by the above application or any subsequently filed provisional, nonprovisional, continuation, divisional, renewal, extension, or substitute thereof, and as to Letters Patent any reissue or re-examination thereof.

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 ASSIGNOR'S 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 therefore and to, at any time, upon the request and at the expense of ASSIGNEE 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 therefore in ASSIGNEE, its successors, assigns or other legal representatives, and that to, at any time, upon the request and at the expense of ASSIGNEE execute any continuations, continuations-in-part, divisional, renewal or substitute thereof, and as to Letters Patent and reissue or re-examination thereof, 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 will 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 its ASSIGNEE.

Juan PLANA-DURAN

Juan PLANA-DURAN

18-MARCH-2005

Date

ACKNOWLEDGMENT

State of _____ }
County of _____ } ss:

On the 18 day of March 2005, Juan PLANA-DURAN personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.



[Signature]

Notary Public

[Signature]

Rut VILA-QUINTANA

18-March-2005

Date

ACKNOWLEDGMENT

State of _____ }
County of _____ } ss:

On the 18 day of March 2005, Rut VILA-QUINTANA personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.



[Signature]

Notary Public

[Signature]

Jordi TARRES-CALL

March 18th 2005

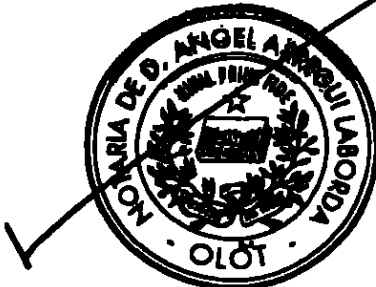
Date

ACKNOWLEDGMENT

State of _____ }
ss:

County of _____ }

On the 18 day of March 2005, Jordi TARRES-CALL personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.



[Signature]

Notary Public

Maresh KUMAR

Date

ACKNOWLEDGMENT

State of _____ }
ss:

County of _____ }

On the _____ day of _____ 2005, Maresh KUMAR personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.

Notary Public

Firmado _____
Jordi TARRES-CALL

Fecha Marzo 18 de 2005

CERTIFICACIÓN

En este día, Marzo 18 de 2005 compareció personalmente ante mí Jordi TARRES-CALL a quien yo conozco como la misma persona descrita y quien ejecutó el Instrumento anterior y declaró que él había ejecutado el mismo, a libre voluntad y para los efectos establecidos aquí.

Firmado

ilegible

Notario Público

Sello: SELLO NOTARIAL

NOTARIA DE D. ANGELA ARREGUI LABORDA

OLOT

Resolución
0694/78
Ministerio

Glennia Paredes Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

Apostilla

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

• n° 35

1. País: Estados Unidos de América
2. Este documento público ha sido firmado por: BARBARA A. KIELY
3. Actuando en su capacidad de Notario Público de New Jersey
4. Tiene el sello/estampilla de BARBARA A. KIELY, NOTARIO

Certificado en

5. En Trenton, New Jersey
6. el día 13 de Marzo de 2007
7. Por Bradley Abelow, TESORERO DE NEW JERSEY
8. No. A285570
9. Sello/Estampilla ESTADO DE NEW JERSEY – SELLO DEL ESTADO
10. Firmado por Bradley Abelow

Sellos: SELLO DEL ESTADO – ESTADO DE NEW JERSEY
ES FIEL COPIA Y TRADUCCIÓN DEL ORIGINAL

Resolución
6894/78
Minjusticia

Clemencia Paredes Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

DECLARACIÓN JURAMENTADA

00035

Yo, Michelle L. McGowan, Asociado de Legalización de Wyeth, certifico por la presente que la copia adjunta ha sido comparada con la CESIÓN original (para U.S.S.N. 60/816,707 y cualquier equivalente legal en un país extranjero, para la invención titulada: "VACUNAS MULTIVALENTES CONTRA LA INFLUENZA AVIAR" de fecha Enero 28 de 2005 de Juan Plana-Durán, Rut Vila-Quintana y Jordi Tarres-Call a Wyeth; y que tal copia es una copia verdadera del original.

Fechado el día 28 de Febrero de 2007, en Madison, New Jersey, Estados Unidos de América.

Por Wyeth

Firmado

Michelle L. Gowan

Asociado de Legalización

PARA SER USADO EN COLOMBIA

CERTIFICACIÓN

Estado de New Jersey)

Condado de Morris)

En este día 28 de Febrero de 2007, compareció personalmente ante mí Michelle L. McGowan, de Wyeth, a quien conozco y sé que es el individuo descrito y quien firmó la declaración de arriba, y me confirmó que ella había firmado la misma.

Firmado

Barbara A. Kiely

Notario Público

Sellos:

1) Sello Impreso que dice:

Barbara A. Kiely ID 33893

Notario Público, Estado de New Jersey

Mi Comisión expira el 20 de Junio de 2009

2) Sello en alto relieve que dice:

BARBARA A. KIELY

NOTARIO PÚBLICO (ilegible)

NEW JERSEY

Resolución
9884/78
Minjusticia

María Mercedes Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL
ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

Cesión de Invención

Teniendo en cuenta el pago hecho por el CESIONARIO al CEDENTE de la cantidad acordada, que por la presente se declara haber recibido satisfactoriamente, los CEDENTES de la lista siguiente:

- (1) Nombre completo del Inventor: Juan PLANA-DURAN
Domicilio: Carrer de les Costes de Simo s/n, 17811 Santa Pau
(Girona), España Ciudadanía: España
- (2) Nombre completo del Inventor: Rut VILA-QUINTANA
Domicilio: Carrer Mulleres 11, 2n 2a, 17820 Olot
(Girona), España Ciudadanía: España
- (3) Nombre completo del Inventor: Jordi TARRES-CALL
Domicilio: Passeig de la Generalitat, 21, 2n 1a, 17820 Banyoles
(Girona), España
Ciudadanía: España
- (4) Nombre completo del Inventor: Mahesh KUMAR
Domicilio: 2910 22nd Avenue North - Fort Dodge,
Iowa 50501
Ciudadanía: United States of America

por la presente Vendemos, Cedemos, y Transferimos al CESIONARIO
WYETH
5 Giralda Faros
Madison, New Jersey 07940

Resolución
6694/78
Ministerio de Justicia

Claudia Paredes Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

y a los sucesores, designados y representantes legales del CESIONARIO todos los derechos, títulos e intereses para los Estados Unidos y sus posesiones territoriales, y para todos los países extranjeros, incluyendo todos los derechos para reclamar prioridad, en y para la invención titulada:
VACUNAS MULTIVALENTES CONTRA INFLUENZA AVIAR

Inventada por el CEDENTE, y los siguientes inventores adicionales, si alguno, la cual se encuentra en: Solicitud US No. 80/818,707 radicada el 7 de Octubre de 2004

[verificar si también se están cediendo solicitudes extranjeras)

X y cualquier equivalente legal en cualquier país extranjero,

La fecha de radicación y número de solicitud de tal Solicitud US deben insertarse arriba cuando se conozcan, incluyendo el derecho a reclamar prioridad, incluyendo cada una y todas las mejoras reveladas allí, y en y para todas las Concesiones de Patente (Letters Patent) que se vayan a otorgar para dicha invención, por la solicitud arriba o por cualquier subsiguiente radicación provisional, no provisional, continuación, divisional, renovación, o sustituto de ésta; y en cuanto a Concesiones de Patentes (Letters Patent), para cualquier re-emisión o re-examen de ésta.

El CEDENTE se compromete a no hacer ninguna cesión, venta, contrato o gravamen que pueda estar en conflicto con esta cesión.

El CEDENTE autoriza al CESIONARIO a hacer solicitudes y a recibir Concesiones de Patente (Letters Patent) por concepto tal invención en cualquiera de los países mencionados, en su propio nombre, o a nombre del CEDENTE.

El CEDENTE se compromete a y conviene en ejecutar o procurar cualquier otra seguridad necesaria del título para tal invención y de cualquier Concesión de Patente (Letters Patent) que pueda ser consiguientemente otorgada; y, en cualquier momento, a solicitud del CESIONARIO testificar en cualquier Interferencia, litigio, o actuación procesal relacionada; y a ejecutar todos los papeles que sean necesarios o deseables para perfeccionar el título a tal invención o a cualquier Concesión de Patente (Letters Patent) que pueda ser otorgada al CESIONARIO, sus sucesores, cesionarios u otros representantes legales; y, en cualquier momento, a solicitud y costo del CESIONARIO, se compromete a ejecutar cualquier continuación, continuación parcial, divisional, renovación o sustitución pertinente de estos; y en cuanto a las Concesiones de Patente (Letters Patent) y cualquier re-emisión o re-examen de estas, o cualquier otra solicitud adicional de Concesión de Patentes para tal invención o parte de ella, tales solicitudes y cualquier Concesión de Patente (Letters Patent) son cedidas por la presente al CESIONARIO; y se compromete a hacer las declaraciones o testificaciones bajo juramento requeridas, y todos los actos legales que sean requisito para procurar éstas, sin compensación adicional, pero a costa del CESIONARIO, sus sucesores, designados, o cualesquier otros representantes legales.

El CEDENTE autoriza y solicita al Comisionado de Patentes emitir cada una y todas las Concesiones de Patentes (Letters Patent) de los Estados Unidos para tal invención resultantes de las solicitudes anteriormente mencionadas a su CESIONARIO.

Rótulo No: AM101861 L1 Patente

Firmado _____
Juan PLANA-DURAN

Fecha Enero 28 de 2005

CERTIFICACIÓN

Estado de Iowa
Condado de Webster

En este día, 28 de Enero de 2005 compareció personalmente ante mí Juan PLANA-DURÁN a quien yo conozco como la misma persona descrita y quien ejecutó el instrumento anterior y declaró que él había ejecutado el mismo, a libre voluntad y para los efectos establecidos aquí.

Firmado

Ilegible

Notario Público

Sello: SELLO NOTARIAL

NOTARIA DE D. ANGELA ARREGUI LABORDA

OLOT

Firmado _____
Rut VILA-QUINTANA

Fecha Enero 28 de 2005

CERTIFICACIÓN

Estado de Iowa
Condado de Webster

En este día, 28 de Enero de 2005 compareció personalmente ante mí Juan Rut VILA-QUINTANA a quien yo conozco como la misma persona descrita y quien ejecutó el instrumento anterior y declaró que él había ejecutado el mismo, a libre voluntad y para los efectos establecidos aquí.

Firmado

Ilegible

Notario Público

Sello: SELLO NOTARIAL (Ilegible)

NOTARIA DE D. ANGELA ARREGUI LABORDA

OLOT

Resolución
6884/78
Minjusticia

Clemencia Paredes Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

Firmado _____
Jordi TARRES-CALL

Fecha Enero 28 de 2005

CERTIFICACIÓN

En este día, 28 de Enero de 2005 compareció personalmente ante mí Jordi TARRES-CALL a quien yo conozco como la misma persona descrita y quien ejecutó el instrumento anterior y declaró que él había ejecutado el mismo, a libre voluntad y para los efectos establecidos aquí.

Firmado

ilegible

Notario Público

Sello: SELLO NOTARIAL

NOTARIA DE D. ANGELA ARREGUI LABORDA

OLOT

Resolución
0004/78
Minjusticia

Clemencia Paredes Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

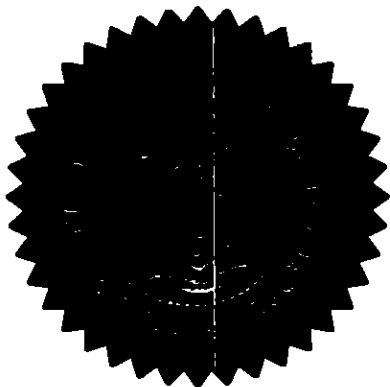
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

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

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 13TH DAY OF MARCH 2007
7. BY: Bradley Abelow, NEW JERSEY TREASURER
8. NO. A285570
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



Bradley Abelow

AFFIDAVIT

I, Michelle L. McGowan, Legalization Associate of Wyeth, do hereby certify that the attached copy has been compared with the original Assignment (for U.S.S.N. 60/616,707 and any legal equivalent thereof in a foreign country, for the invention entitled: "Multivalent Avian Influenza Vaccines") dated January 28, 2005 from Juan Plana-Duran and Rut Vila-Quintana and Jordi Tarres-Call to Wyeth and that the said copy is a true copy of the original.

Dated this 26th day of February, 2007, at Madison, New Jersey, United States of America.

Wyeth


Michelle L. McGowan
Legalization Associate

TO BE USED IN COLOMBIA

ACKNOWLEDGMENT

State of New Jersey)
)
County of Morris)

On this 26th day of February, 2007, before me personally appeared Michelle L. McGowan, Legalization Associate of Wyeth, 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.

Barbara A. Kieley ID. 33893
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires June 20, 2009


Notary Public

Assignment of Invention

In consideration of the payment by ASSIGNEE to ASSIGNOR of good and valuable consideration, the receipt of which is hereby acknowledged,
ASSIGNOR:

(1) Full Name of Inventor: **Juan PLANA-DURAN**
Residence: **Cortes de Simo, s/n, 17811 Santa Pau (Girona), Spain**
Citizenship: **Spain**

(2) Full Name of Inventor: **Rut VILA-QUINTANA**
Residence: **Carrer Mulleres, 11, 17800 OLOT (Girona), Spain**
Citizenship: **Spain**

(3) Full Name of Inventor: **Jordi TARRES-CALL**
Residence: **Passeig de la Generalitat, numero 21, 2n 1a, 17820 Banyoles (Girona), Spain**
Citizenship: **Spain**

(4) Full Name of Inventor: **Mahesh KUMAR**
Residence: **1910 22nd Ave. No., Fort Dodge, Iowa 50501**
Citizenship: **USA**

hereby sells, assigns and transfers to ASSIGNEE:

Wyeth
Five Giralda Farms
Madison, New Jersey 07940

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 entitled:
MULTIVALENT AVIAN INFLUENZA VACCINES

and invented by ASSIGNOR and the following additional inventors, if any:

and which is found in U.S. Application No. 60/616,707 filed on: October 7, 2004

[also check if foreign application(s) is(are) also being assigned]

☒ and any legal equivalent thereof in a foreign country,

the date of filing and application number of said U.S. application when known, to be inserted above, including the right to claim priority, including any and all improvements disclosed therein, and in and to all Letters Patent to be obtained for said invention by the above application or any subsequently filed provisional, nonprovisional, continuation, divisional, renewal, or substitute thereof, and as to Letters Patent any reissue or re-examination thereof.

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 ASSIGNOR's 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 therefore and to, at any time, upon the request and at the expense of ASSIGNEE 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 therefore in ASSIGNEE, its successors, assigns or other legal representatives, and that to, at any time, upon the request and at the expense of ASSIGNEE execute any continuation, continuation-in-part, divisional, renewal or substitute thereof, and as to Letters Patent and reissue or re-examination thereof, or any other additional applications of Letters Patent for said invention or any part thereof, all of which applications and any Letters Patent issuing thereon are hereby assigned to ASSIGNEE, and will 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 its ASSIGNEE.

Juan PLANA-DURAN

Juan PLANA-DURAN

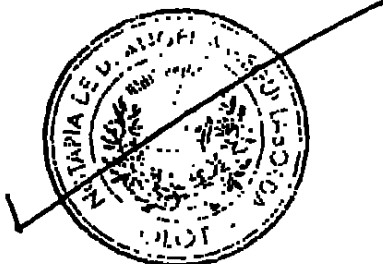
28 January - 2005

Date

00015

ACKNOWLEDGMENT

On the 28 day of JANUARY 2005, Juan PLANA-DURAN personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.



[Signature]

Notary Public

ANNEZ ANNEZ 2120207

[Signature]

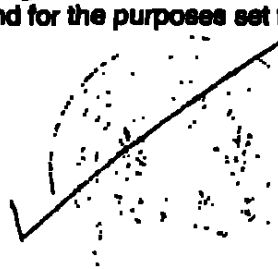
Rut VILA-QUINTANA

January 28, 2005

Date

ACKNOWLEDGMENT

On the 28 day of JANUARY 2005, Rut VILA-QUINTANA personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.



[Signature]

Notary Public

ANNEZ ANNEZ 2120207

Jordi TARRES-CALL

Date _____

ACKNOWLEDGMENT

On the 28 day of JANUARY 2005, Jordi TARRES-CALL personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.

Notary Public

ANGEL PEREZ LABORDA

Mahesh KUMAR

Date _____

ACKNOWLEDGMENT

State of Iowa)
County of _____) ss:

On the day of 2005, Maheesh KUMAR personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.

Notary Public

Apostilla
(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

... 000/7 47

1. País: Estados Unidos de América
2. Este documento público ha sido firmado por: BARBARA A. KIELY
3. Actuando en su capacidad de Notario Público de New Jersey
4. Tiene el sello/estampilla de BARBARA A. KIELY, NOTARIO

Certificado en

5. En Trenton, New Jersey
6. el día 13 de Marzo de 2007
7. Por Bradley Abelow, TESORERO DE NEW JERSEY
8. No. A285571
9. Sello/Estampilla ESTADO DE NEW JERSEY – SELLO DEL ESTADO
10. Firmado por Bradley Abelow

Sellos: SELLO DEL ESTADO – ESTADO DE NEW JERSEY

ES FIEL COPIA Y TRADUCCIÓN DEL ORIGINAL

**Resolución
6694/78
Minjusticia**

Clemencia Paredes Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, Michelle L. McGowan, Asociado de Legalización de Wyeth, certifico por la presente que la copia adjunta ha sido comparada con la CESIÓN original (para U.S.S.N, 80/816,707 y cualquier equivalente legal en un país extranjero, para la invención titulada: "VACUNAS MULTIVALENTES CONTRA LA INFLUENZA AVIAR" de fecha Enero 21 de 2005 de Mahesh KUMAR a Wyeth; y que tal copia es una copia verdadera del original.

Fechado el día 28 de Febrero de 2007, en Madison, New Jersey, Estados Unidos de América.

Por Wyeth
Firmado
Michelle L. Gowan
Asociado de Legalización

PARA SER USADO EN COLOMBIA

CERTIFICACIÓN

Estado de New Jersey)

Condado de Morris)

En este día 28 de Febrero de 2007, compareció personalmente ante mí Michelle L. McGowan, de Wyeth, a quien conozco y sé que es el individuo descrito y quien firmó la declaración de arriba, y me confirmó que ella había firmado la misma.

Firmado

Barbara A. Kiely
Notario Público

Sellos:

- 1) Sello Impreso que dice:
Barbara A. Kiely ID 33893
Notario Público, Estado de New Jersey
Mi Comisión expira el 20 de Junio de 2009
- 2) Sello en alto relieve que dice:
BARBARA A. KIELY
NOTARIO PÚBLICO
NEW JERSEY

Resolución
8884/78
Minjusticia

Glorianela Parades Tejeda
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

Cesión de Invención

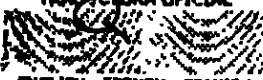
Teniendo en cuenta el pago hecho por el CESIONARIO al CEDENTE de la cantidad acordada, que por la presente se declara haber recibido satisfactoriamente, los CEDENTES de la lista siguiente:

- (1) Nombre completo del Inventor: Juan PLANA-DURAN
Domicilio: Carrer de les Costes de Simo *sin*, 17811 Santa Pau
(Girona), España
Ciudadanía: España
- (2) Nombre completo del Inventor: Rut VILA-QUINTANA
Domicilio: Carrer de Mulleres 11, 2n 2a, 17800 Olot
(Girona), España
Ciudadanía: España
- (3) Nombre completo del Inventor: Jordi TARRES-CALL
Domicilio: Passeig de la Generalitat, 21, 2n 1a, 17820 Banyoles
(Girona), España
Ciudadanía: España
- (4) Nombre completo del Inventor: Mahesh KUMAR
Domicilio: 2910 22nd Avenue North - Fort Dodge,
Iowa 50501
Ciudadanía: United States of America

por la presente Vendemos, Cedemos, y Transferimos al CESIONARIO

WYETH
5 Giralda Faros
Madison, New Jersey 07940

Resolución
6894/78
Minjusticia

Elencor's Paredes Tejadas
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

Rótulo No: AM101861 L1 Patente

y a los sucesores, designados y representantes legales del CESIONARIO todos los derechos, títulos e intereses para los Estados Unidos y sus posesiones territoriales, y para todos los países extranjeros, incluyendo todos los derechos para reclamar prioridad, en y para la invención titulada:

VACUNAS MULTIVALENTES CONTRA INFLUENZA AVIAR

las cuales se encuentran en: Solicitud US No. 60/616,707 radicada el 7 de Octubre de 2004

[verificar también si se están cediendo solicitudes extranjeras)

X y cualquier equivalente legal en cualquier país extranjero,

La fecha de radicación y número de solicitud de tal Solicitud US deben insertarse arriba cuando se conozcan, incluyendo el derecho a reclamar prioridad, incluyendo cada una y todas las mejoras reveladas allí, y en y para todas las Concesiones de Patente (Letters Patent) que se vayan a otorgar para dicha invención, por la solicitud arriba o por cualquier subsiguiente radicación provisional, no provisional, continuación, divisional, renovación, o sustituto de ésta; y en cuanto a Concesiones de Patentes (Letters Patent) , para cualquier re-emisión o re-examen de ésta.

El CEDENTE se compromete a no hacer ninguna cesión, venta, contrato o gravamen que pueda estar en conflicto con esta cesión.

El CEDENTE autoriza al CESIONARIO a hacer solicitudes y a recibir Concesiones de Patente (Letters Patent) por concepto tal invención en cualquiera de los países mencionados, en su propio nombre, o a nombre del CEDENTE.

El CEDENTE se compromete a y conviene en ejecutar o procurar cualquier otra seguridad necesaria del título para tal invención y de cualquier Concesión de Patente (Letters Patent) que pueda ser consiguientemente otorgada; y, en cualquier momento, a solicitud del CESIONARIO testificar en cualquier Interferencia, litigio, o actuación procesal relacionada; y a ejecutar todos los papeles que sean necesarios o deseables para perfeccionar el título a tal invención o a cualquier Concesión de Patente (Letters Patent) que pueda ser otorgada al CESIONARIO, sus sucesores, cesionarios u otros representantes legales; y, en cualquier momento, a solicitud y costo del CESIONARIO, se compromete a ejecutar cualquier continuación, continuación parcial, divisional, renovación o sustitución pertinente de estos; y en cuanto a las Concesiones de Patente (Letters Patent) y cualquier re-emisión o re-examen de estas, o cualquier otra solicitud adicional de Concesión de Patentes para tal invención o parte de ella, tales solicitudes y cualquier Concesión de Patente (Letters Patent) son cedidas por la presente al CESIONARIO; y se compromete a hacer las declaraciones o testificaciones bajo juramento requeridas, y todos los actos legales que sean requisito para procurar éstas, sin compensación adicional, pero a costa del CESIONARIO, sus sucesores, designados, o cualesquier otros representantes legales.

El CEDENTE autoriza y solicita al Comisionado de Patentes emitir cada una y todas las Concesiones de Patentes (Letters Patent) de los Estados Unidos para tal invención resultantes de las solicitudes anteriormente mencionadas a su CESIONARIO.

Resolución
6694/78
Minjusticia



Firmado _____
Maheesh KUMAR

Fecha Enero 21 de 2005

00051

CERTIFICACIÓN

En este día, 21 de Enero de 2005 compareció personalmente ante mí Maheesh KUMAR a quien yo conozco como la misma persona descrita y quien ejecutó el Instrumento anterior y declaró que él había ejecutado el mismo, a libre voluntad y para los efectos establecidos aquí.

Firmado

Illegible

Notario Público

Sello: SELLO NOTARIAL

JULIE KOSTER

Sello Notarial - Iowa

Comisión # 182602

MI comisión expira Sept 22, (Illegible)

Recepción
6894/78
Minjusticia

Marlene Paredes Tejada
TRADUCTORA OFICIAL

ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

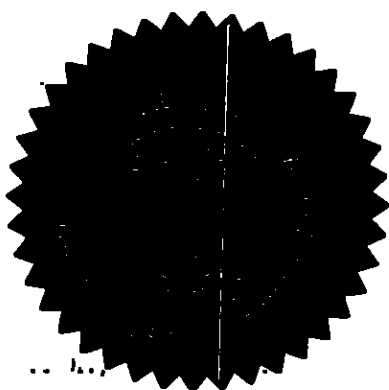
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

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

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 13TH DAY OF MARCH 2007
7. BY: Bradley Abelow, NEW JERSEY TREASURER
8. NO. A285571
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



Bradley Abelow

AM101861 L1

AFFIDAVIT

I, Michelle L. McGowan, Legalization Associate of Wyeth, do hereby certify that the attached copy has been compared with the original Assignment (for U.S.S.N. 60/616,707 and any legal equivalent thereof in a foreign country, for the invention entitled: "Multivalent Avian Influenza Vaccines") dated January 21, 2005 from Mahesh Kumar to Wyeth and that the said copy is a true copy of the original.

Dated this 26th day of February, 2007, at Madison, New Jersey, United States of America.

Wyeth


Michelle L. McGowan
Legalization Associate

TO BE USED IN COLOMBIA

ACKNOWLEDGMENT

State of New Jersey)
)
County of Morris)

On this 26th day of February, 2007, before me personally appeared Michelle L. McGowan, Legalization Associate of Wyeth, 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

Barbara A. Klely ID. 33893
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires June 20, 2009

Assignment of Invention

In consideration of the payment by ASSIGNEE to ASSIGNOR of good and valuable consideration, the receipt of which is hereby acknowledged,
ASSIGNOR:

(1) Full Name of Inventor: **Juan PLANA-DURAN**
Residence: **Costes de Simo, s/n, 17811 Santa Pau (Girona), Spain**
Citizenship: **Spain**

(2) Full Name of Inventor: **Rut VILA-QUINTANA**
Residence: **Carrer Mulleres, 11, 17800 OLOT (Girona), Spain**
Citizenship: **Spain**

(3) Full Name of Inventor: **Jordi TARRES-CALL**
Residence: **Passeig de la Generalitat, numero 21, 2n 1a, 17820 Banyoles (Girona), Spain**
Citizenship: **Spain**

(4) Full Name of Inventor: **Mahesh KUMAR**
Residence: **1910 22nd Ave. No., Fort Dodge, Iowa 50501**
Citizenship: **USA**

hereby sells, assigns and transfers to ASSIGNEE:

Wyeth
Five Giralda Farms
Madison, New Jersey 07940

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 entitled:
MULTIVALENT AVIAN INFLUENZA VACCINES

and invented by ASSIGNOR and the following additional inventors, if any:

and which is found in U.S. Application No. 60/616,707 filed on: **October 7, 2004**

[also check if foreign application(s) is(are) also being assigned]

☒ and any legal equivalent thereof in a foreign country,

the date of filing and application number of said U.S. application when known, to be inserted above, including the right to claim priority, including any and all improvements disclosed therein, and in and to all Letters Patent to be obtained for said invention by the above application or any subsequently filed provisional, nonprovisional, continuation, divisional, renewal, or substitute thereof, and as to Letters Patent any reissue or re-examination thereof.

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 ASSIGNOR's 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 therefore and to, at any time, upon the request and at the expense of ASSIGNEE 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 therefore in ASSIGNEE, its successors, assigns or other legal representatives, and that to, at any time, upon the request and at the expense of ASSIGNEE execute any continuation, continuation-in-part, divisional, renewal or substitute thereof, and as to Letters Patent and reissue or re-examination thereof, or any other additional applications of Letters Patent for said invention or any part thereof, all of which applications and any Letters Patent issuing thereon are hereby assigned to ASSIGNEE, and will 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 its ASSIGNEE.

.. 00056

Juan PLANA-DURAN

Date

ACKNOWLEDGMENT

On the _____ day of _____, 2005, Juan PLANA-DURAN personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.

Notary Public

Rut VILA-QUINTANA

Date

ACKNOWLEDGMENT

On the _____ day of _____, 2005, Rut VILA-QUINTANA personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.

Notary Public

00057

Jordi TARRES-CALL

Date

ACKNOWLEDGMENT

On the _____ day of _____, 2005, Jordi TARRES-CALL personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.

Notary Public

Maresh K

Maresh KUMAR

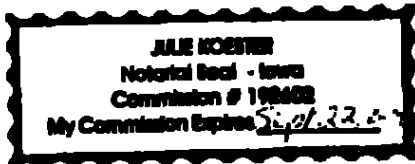
January 21, 2005

Date

ACKNOWLEDGMENT

State of Iowa)
County of Webster) ss:

On the 21st day of January, 2005, Maresh KUMAR personally appeared before me, known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he/she executed the same, of his/her own free will and for the purposes set forth.



Julie Koester
Notary Public

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
20 April 2006 (20.04.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/041978 A3

(51) International Patent Classification:
A61K 39/145 (2006.01) A61K 39/39 (2006.01)
A61K 39/295 (2006.01)

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

(21) International Application Number:
PCT/US2005/035925

(22) International Filing Date 6 October 2005 (06.10.2005)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/616,707 7 October 2004 (07.10.2004) US
60/648,459 31 January 2005 (31.01.2005) US

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, EG, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant (for all designated States except US): WYETH [US/US]; Five Glaxo Farms, Madison, New Jersey 07940 (US).

Declarations under Rule 4.17:

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

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): FLANA-DURAN, Juan [ES/ES]; Costas De Sino s/a, E-17811 Santa Pau (Girona) (ES); VILA-QUENTANA, Eust [ES/ES]; Carrer Molinos 11, 2a 2a, E-17800 Olot (Girona) (ES); TARRES-CALL, Jordi [ES/ES]; Passeig de la Generalitat Numero 21, 2a 1a, E-17820 Banyoles (Girona) (ES); KUMAR, Mahesh [US/US]; 2910 22nd Avenue North, Fort Dodge, Iowa 50501 (US).

Published:

- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

(74) Agent: LEVIE, John, F.; Wyeth, Patent Law Department, Five Glaxo Farms, Madison, New Jersey 07940, (US).

(88) Date of publication of the international search report:
3 August 2006

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

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.

(54) Title: MULTIVALENT AVIAN INFLUENZA VACCINES

(57) Abstract: A vaccine composition and method which is effective in preventing or ameliorating Avian Influenza Virus infection is set forth herein. The vaccine contains at least two inactivated strains of avian influenza virus, wherein the combined haemagglutinin (HA) total is at least about 200 HA/dose of the vaccine composition, and wherein each of the strains presents at least about 128 HA/dose, and further wherein one of the strains has the same HA subtype as that of a challenge virus, and wherein at least one of the strains has a different NA subtype than the challenge virus.

WO 2006/041978 A3

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
20 April 2006 (20.04.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/041978 A2

(51) International Patent Classification: Not classified

(21) International Application Number:
PCT/US2005/039925

(22) International Filing Date: 6 October 2005 (06.10.2005)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/616,707 7 October 2004 (07.10.2004) US
60/648,459 31 January 2005 (31.01.2005) US(71) Applicant (for all designated States except US): WYETH
[US/US]; Five Giralda Farms, Madison, New Jersey 07940
(US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): FLANA-DURAN,
Juan [ES/ES]; Cortes De Simo s/n, E-17811 Santa Pau
(Girona) (ES). VILA-QUINTANA, Rut [ES/ES]; Carrer
Mulleres 11, 2n 2a, E-17800 Olot (Girona) (ES). TAR-
RES-CALL, Jordi [ES/ES]; Passeig de la Generalitat Nu-
mero 21, 2n 1a, E-17820 Banyoles (Girona) (ES). KU-
MAR, Mahesh [US/US]; 2910 22nd Avenue North, Fort
Dodge, Iowa 50501 (US).(74) Agent: LEVIS, John, F.; Wyeth, Patent Law Department,
Five Giralda Farms, Madison, New Jersey 07940, (US).(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY,
MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO,
NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT,
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

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

Published:

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

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

(54) Title: MULTIVALENT AVIAN INFLUENZA VACCINES

(57) Abstract: A vaccine composition and method which is effective in preventing or ameliorating Avian Influenza Virus infection is set forth herein. The vaccine contains at least two inactivated strains of avian influenza virus, wherein the combined haemagglutinin (HA) total is at least about 200 HA/dose of the vaccine composition, and wherein each of the strains presents at least about 128 HA/dose, and further wherein one of the strains has the same HA subtype as that of a challenge virus, and wherein at least one of the strains has a different NA subtype than the challenge virus.

WO 2006/041978 A2

MULTIVALENT AVIAN INFLUENZA VACCINES

FIELD OF THE INVENTION

The present invention relates to novel multivalent avian influenza vaccines
5 useful for vaccinating susceptible avians in the face of an outbreak of disease. The invention also relates to new methods for preventing or ameliorating avian influenza viral disease in poultry.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Avian Influenza, also called "AI," is an acute and highly contagious viral
10 infection of chickens and other fowl. As an influenza virus, it is classified in subtypes on the basis of antigen differences in the haemoagglutinin (HA; also may be abbreviated as H) and neuroaminidase (NA; also may be abbreviated as N) molecules, which "reassort" or "mutate" from season to season. Because it constantly mutates, vaccine preparation is difficult due to the unpredictability as to
15 which strain will reappear in subsequent seasons. The strains used for vaccine preparation often do not reproduce under manufacturing conditions at a very fast rate, so that waiting for an appearance of a particular strain, and then manufacturing the correct vaccine to protect against the strain does not provide a viable option. Typically, the epidemic of the particular strain will last for several months, and then
20 perhaps disappear for several years.

Eradication is the principal method for controlling the disease in avians, without obvious economic disadvantages, but if a vaccine with a fast onset of immunity could be produced, such a product would offer a viable alternative to mass slaughter of entire flocks.

25 The influenza viruses are known to be classifiable in the various A, B, C topologies, according to the group antigen the viruses carry. The influenza viruses of the A, B, C types can be distinguished from one another on the basis of the antigen differences that can be found in the viral nucleocapsid (NP) and matrix (M) proteins. In particular, the A-type influenza viruses can be classified into subtypes on the basis
30 of antigen differences in the haemoagglutinin (HA) and neuroaminidase (NA)

molecules. Presently nine subtypes of the neuroaminidase NA proteins, designated NA1 to NA 9, and fifteen different subtypes of the serum haemoagglutinin HA proteins, designated HA 1 to HA 15, have been identified. In birds, viruses carrying any of the various HA (or H) and NA (or N) subtypes have been isolated.

5 HA is a viral surface glycoprotein comprising approximately 560 amino acids and representing 25 of the total virus protein. It is chiefly responsible of adhesion of the viral particle to the host cell and of 25 its penetration into the latter in the early stages of the infection. Haemoagglutinin, among the viral proteins, is the one that is most subject to post- translational rearrangements. After the synthesis thereof has
10 been completed, the molecule follows the 5 exocytotic pathway of the host cell, in the course of which HA is folded, assembled in trimers and glycosylated. Finally it is cleaved into two subunits H1 and H2; this cleavage is the key step in the activation of the molecule and in the acquisition of 10 the infective capacity by the virion.

It is well known, in fact, that the different composition of the cleavage site,
15 concerning the basic amino acid residues, translates into the capacity of the avian influenza virus to produce localized, or symptomatic infections, or, vice versa, generalized infections having a lethal outcome for many avian species. It has therefore been suggested that this fact might influence the organ-tropism, the host specificity, as well as the pathogenicity of the virus. With respect to the pathogenicity
20 of the virus, strains with multibase-site HA find proteases that cleave the HO molecule, in the active form H1 and H2 in several cellular types thus giving rise to multiple infection cycles with a massive production of 25 infectious viral particles and causing a generalization of the infections in all of the districts within a short time period (HPAI strains). The infection will consequently turn out to have an acute-
25 hyperacute course, with very high mortality.

Neuroaminidase (NA) represents the second membrane glycoprotein of the influenza A viruses. It is coded for by a gene (segment 6 of the virus RNA) of 1413 nucleotide length that codes for a 413 amino acid peptide. This protein has at least
30 two important 10 functions: destruction of the cellular receptor for the viral haemoagglutinin by cleaving between the sialic acid molecule and the haemoagglutinin itself. In this way it is supposed to possibly ease the liberation of the viral progeny by preventing the newly formed viral particles from accumulating along the cell membrane, as well as promoting the transportation of the virus through the

mucus that is present on the mucosal surface. NA moreover represents an important antigen determinant that is subject to antigenic variations.

There currently exists a need in the art for avian influenza vaccines which would provide a useful alternative to eradication of infected flocks. Such vaccines would need to elicit a quick immune response in the vaccinated avian, and preferably would enable vaccinated birds to be able to be differentiated from infected birds. Bivalent or polyvalent influenza vaccines have been postulated to be utilizable in the so-called "DIVA" methods, where a vaccine is administered having an N different from the strain being vaccinated against so as to provide a means of differentiating vaccinated from infected birds. Published PCT WO 03/086453, whose disclosure is incorporated in its entirety by reference, describes the DIVA technology, and some representative vaccines utilizable in the methods thereof.

Combined or multivalent vaccines offer a number of obvious advantages over monovalent vaccines. One advantage of a multivalent vaccine is that fewer vaccine inoculations are required. A single preparation can be administered in one inoculation and is effective against several diseases or strains of a single disease. As the range of potential viral strains increases, the combination of vaccines becomes even more mandatory in order to minimize the number of inoculations. The decreased number of inoculations needed when vaccines are combined would likely lead to an increased compliance to the vaccination schedule. This in turn would likely lead to a resulting increase in vaccine coverage, which would ultimately lead to better disease control.

An unexpected problem of combined vaccines is the recently identified negative influence that one vaccine may have on another in a combination vaccine, the so-called "antigen interference" effect. It has been found that when two existing vaccines are simply mixed, one or both may lose their potency (Andre, F.E., "Development of Combined Vaccines: Manufacturers' Viewpoint," *Biologicals* 22:317-321 (1994); Hadler, S.C., "Cost benefit of combining antigens," *Biologicals* 22:415-418 (1994); Goldenthal, K. L., et al., "Overview - Combination Vaccines and Simultaneous Administration. Past, Present, and Future." In: *Combined Vaccines and Simultaneous Administration, Current Issues and Perspectives* (Eds. Williams, J.C., et al.) The New York Academy of Sciences, New York, pp. 1 XI-XV (1995); Clemens, J., et al., "Interactions between PRP-T Vaccine against *Haemophilus influenzae* Type b and Conventional Infant Vaccines Lessons for Future Studies of Simultaneous

Immunization and Combined Vaccines. "In: *Combined Vaccines and Simultaneous Administration. Current Issues and Perspectives* (Eds. Williams, J.C., et al.) The New York Academy of Sciences, New York, pp. 255-266 (1995); Insel, R.A., "Potential Alterations in Immunogenicity by Combining or Simultaneously Administering Vaccine Component," In: *Combined Vaccines and Simultaneous Administration. Current Issues and Perspectives* (Eds. Williams, J.C., et al.) The New York Academy of Sciences, New York, pp. 35-47 (1995)).

Unfortunately, it cannot always be predicted by the use of currently established potency tests in the laboratory whether individual vaccine components will retain their potency. For example, several independent studies reported that when the Hib vaccine is combined with a whole cell pertussis vaccine there is no interference between the two vaccines but when the Hib vaccine is combined with acellular pertussis vaccines there is a substantial loss of the Hib immunogenicity. It was shown that when Hib is combined with DTaP, it maintains its immunogenicity if given at separate sites, while the immunogenicity is 5-15 times lower when the vaccines administered combined at the same site. This unexpected result confirms that combining two existing vaccines may not be a simple or routine process, and such combination often gives very unpredictable results that are not detected during the initial studies. The studies required to document non-interference often adds several additional months or years of studies to document non-interference, and suitability for use.

Bivalent avian influenza vaccines have been available in the marketplace, such as the vaccine known as Fluvac® marketed by Merial, but there still exists a need for improved bivalent or polyvalent avian influenza vaccines which invoke a rapid immune response, and a higher titre response, and which can thus be utilized to quickly protect birds in the face of an outbreak.

SUMMARY OF THE INVENTION

In one aspect, the invention is directed to a vaccine composition which is effective in preventing or ameliorating avian influenza, and which can be utilized in DIVA technology, and which further has the advantages of providing a rapid onset of immune response, which comprises an HA/dose rate of greater than about 200 HA/dose, and most preferably, in the range of about 250-300 HA/dose.

. . . 000000

Thus, the invention provides a vaccine composition comprising at least two strains of avian influenza wherein the combined HA/dose is greater than about 200 HA/dose, and preferably is about 250-300 HA/dose. The amount of the HA/dose of each of the avian influenza strains may vary, but is typically at least about 75 HA/dose, and most preferably is greater than about 128 HA/dose.

The particular avian influenza strains chosen for the bivalent or multivalent vaccine of the present invention are dependent upon the particular strain prevalent in the area where the vaccine is to be administered. Most preferably, one of the strains will have a HA subtype identical to the HA subtype of the prevalent or challenge strain, and a differing N component so as to enable use of the DIVA technology. The additional strains may be selected from other HA subtypes having an incidence in the area to be treated, again preferably with differing N subtype.

As a further part of the invention there is provided a vaccine composition which is effective in preventing or ameliorating Avian Influenza Virus infection, which comprises at least two inactivated strains of avian influenza virus, wherein the combined haemoagglutinin (HA) total is at least about 200 HA/dose of the vaccine composition, and wherein each of the strains presents at least about 128 HA/dose, and further wherein one of the strains has the same HA subtype as that of a challenge virus, and wherein at least one of the strains has a different NA subtype than the challenge virus.

Also provided herein is a method of preventing or ameliorating an outbreak of Avian Influenza virus infection, which comprises administering to a poultry member a vaccine composition which contains at least two inactivated strains of avian influenza virus, wherein the combined haemoagglutinin (HA) total is at least about 200 HA/dose of the vaccine composition, and wherein each of the strains presents at least about 128 HA/dose, and further wherein one of the strains has the same HA subtype as that of a challenge virus, and wherein at least one of the strains has a different NA subtype than the challenge virus.

There is also provided a vaccine composition which is effective in preventing or ameliorating Avian Influenza Virus infection, which comprises at least two inactivated strains of avian influenza virus, wherein the combined haemoagglutinin (HA) total is at least about 250 HA/dose of the vaccine composition, and wherein each of the strains presents at least about 150 HA/dose, and further wherein one of

00005

the strains has the same HA subtype as that of a challenge virus, and wherein at least one of the strains has a different NA subtype than the challenge virus, and also wherein the composition contains two surfactants consisting essentially of sorbitan oleate esters.

5 These and other embodiments, features and advantages of the invention will become apparent from the detailed description and the appended claims set forth herein below.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

10 In one aspect, the present invention is directed to novel polyvalent avian influenza vaccines having a total HA content of greater than about 200 HA/dose.

 The avian influenza isolates useful for the vaccines of the present invention may be isolated using techniques available in the art. For example, tissue or serum from infected chickens may be obtained from a commercial broiler flock. The virus
15 may then be passaged in tissue or other suitable media to establish a master seed virus. Further characterization by the skilled artisan may also be undertaken using available methods. The viruses may be inactivated using available methods, such as heat and chemical treatment, for example.

 In a further aspect herein, the invention also comprises a vaccine composition
20 containing at least two avian influenza strains.

 The vaccine composition of the invention may be formulated using available techniques, preferably with a pharmacologically acceptable carrier. For example, in one embodiment an aqueous formulation is contemplated. Such formulations utilize water, saline, or phosphate or other suitable buffers. In still another embodiment, the
25 vaccine composition is preferably a water-in-oil or oil-in-water emulsion. Also contemplated are double emulsions, often characterized as water-in-oil-in-water emulsions. The oil may help to stabilize the formulation and further function as an adjuvant or enhancer. Suitable oils include, without limitation, white oil, Drakeoil, squalane or squalene, as well as other animal, vegetable or mineral oils, whether
30 naturally-derived or synthetic in origin.

 In addition, the vaccine composition may contain other suitable adjuvants available in the art. These can include aluminum hydroxide and aluminum phosphate, for example, as well as other metal salts.

Additional excipients may also be included in the vaccine composition, such as surfactants or other wetting agents or formulation aids. Surfactants can include the sorbitan mono-oleate esters (TWEEN® series), as well as the ethylene oxide/propylene oxide block copolymers (PLURONIC® series), as well as others available in the art. Other compounds recognized as stabilizers or preservatives may also be included in the vaccine. These compounds include, without limitation, carbohydrates such as sorbitol, mannitol, starch, sucrose, dextrin or glucose and the like, as well the preservative formalin, for example.

The vaccine composition may also be formulated as a dry powder, substantially free of exogenous water, which may then be reconstituted by an end user prior to administration.

The vaccine composition is most preferably formulated utilizing killed or inactivated virus. Also contemplated for use herein is a recombinant vaccine, which expresses the required HA proteins at the necessary level so as to provide a total HA content of greater than about 200.

The vaccine composition of the invention will preferably contain a minimum of about 200 HA total from its influenza viral components. In one embodiment of the invention, the vaccine will contain about 128 HA/dose from each strain, and even more preferably about 192 HA/dose from each strain.

Other poultry antigens against other diseases may also be included and administered with the vaccine composition of the invention. For example, vaccine antigens against chicken herpes virus, chicken anemia virus (CAV), Newcastle Disease virus and Infectious Bronchitis (IB) virus, as well as reovirus antigens may be included as part of the vaccine composition of the invention. One or more reovirus antigens may be particularly preferred as part of the vaccine composition of the invention.

The invention is also directed to a method for inducing protection against infection from avian influenza virus. The method involves administering to a poultry animal a vaccine composition containing at least two strains of avian influenza virus with the combined HA content of greater than about 200 HA/dose, with 250 to 300 HA/dose being particularly preferred.

The method of administration may be selected by the skilled artisan. For instance, the vaccine composition may be administered to post-hatch, young (few

days to several weeks old) chicks via drinking water, spraying or eye drops. *In ovo* administration is contemplated herein. For example, embryos may be inoculated, usually at about day 18-19. Other methods wherein the vaccine composition of the invention is administered parenterally, subcutaneously, peritoneally, orally,
5 intranasally, or by other available means, preferably parenterally, more preferably intramuscularly, in effective amounts according to a schedule which may be determined according to the time of anticipated potential exposure to a carrier of the disease-causing Avian Influenza Virus, are also within the scope of the invention.

A dose is typically within the range of about 0.25 mL to about 2.0 mL per poultry
10 animal, more preferably about 0.5 mL to about 1.0 mL per animal. Thus, one, two or more doses are contemplated herein, with as few as possible being particularly preferred.

As set forth above, the invention is directed to novel avian influenza vaccine compositions and methods for use thereof poultry. The term "poultry" is intended to
15 encompass, without limitation, all commercially-bred poultry animals, including chickens, ducks, geese, turkeys, peafowl, bantam fowl, and the like.

EXAMPLES

The following examples illustrate various preferred aspects of the invention, but
20 should not be construed as in any way limiting the full scope thereof.

64
n3/28

EXAMPLE 1

COMPOSITION OF THE PRODUCT (PER DOSE)

Name of Ingredient	Quantity	Function
<u>Active Ingredient(s)</u>		
Inactivated Avian Influenza Virus H5N9 Strain A/CK/Italy/22A/H5N9/1998	≥ 128 HA	active ingredient
Inactivated Avian Influenza Virus, H7N1 Strain A/CK/Italy/1067/H7N1/1999	≥ 128 HA	active ingredient
<u>Constituents of the adjuvants</u>		
Light Mineral Oil	230 mg	adjuvant
sorbitan sesquioleate (vegetable)	22.5 mg	emulsifier
Polysorbate 80 (vegetable)	4.3 mg	emulsifier
<u>Constituents of the excipients</u>		
Thiomersal	0.02 mg	preservative
Phosphate Buffered Saline	Ad 0.5 ml	diluent

DEVELOPMENT PHARMACEUTICS

Strains included in POULVAC® i-AI H5N9, H7N1

The strains, Avian Influenza Virus H5N9 and Avian Influenza virus H7N1,
5 for POULVAC i-AI H5N9, H7N1 were selected based on prevalence in the
field. Both strains were supplied by the Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Venezie (IZS), Italy. Their efficacy has been demonstrated by sero
conversion of chickens.

Adjuvant included in POULVAC i-AI H5N9, H7N1

10

The adjuvant was chosen based on the well-established
immunostimulating effect of mineral oil emulsions, formulated as water in oil
(W/O) emulsion. A pharmaceutical grade light mineral oil (NF) Drakeol 5 is
used in the formulation.

15 In order to achieve a stable water-in-oil emulsion (W/O), it is necessary
to use surfactants. The surfactants Sorbitan Sesquileate (vegetable), a
hydrophobic surfactant, and Polysorbate 80 (vegetable), a hydrophilic
surfactant, were chosen because of their emulsifying properties. The use of a
combination of these surfactants has now been shown to result in a stable
20 emulsion.

Arlacel 83V = Sorbitan sesquileate, an equimolar mixture of
monoesters and diesters;

CAS number = 8007-43-9. It is used in the preparations of creams,
emulsions and ointments.

25 Tween 80V = Polysorbate 80 = Polyoxyethylene 20 sorbitan monooleate;
CAS number = 9005-65-6. It is used in the preparation of stable oil-in-
water emulsions.

65

- n70

Sorbitan esters like Arlacel 83V produce stable W/O emulsions but are frequently used in combination with varying proportions of a polysorbate like Tween 80V to produce a W/O emulsion.

Both the Arlacel 83V and Tween 80V used to formulate the product are
5 of vegetable origin.

Dose Volume & Vaccination Schedule

The dose volume of 0.5 ml is common for use in the poultry industry.

POULVAC LAI H5N9, H7N1

10 Efficacy Based on Serological Studies

1. Exploratory Dose Response Study

An exploratory dose titration study was carried out to determine the antibody response to varying antigen HA levels. Four experimental vaccines containing antigen concentrations of 256, 128, 64 or 32 HA units were prepared and each one
15 was used to intramuscularly vaccinate 10 SPF chickens at two and four weeks of age. A group of ten similar chickens were left unvaccinated as controls. Blood samples were taken prior to each vaccination and two weeks, 6 weeks and 10 weeks after the second vaccination to monitor the serology. Samples of sera were evaluated using a haemagglutination inhibition (HI test) in house and were also
20 evaluated at the Istituto Zooprofilattico Sperimentale (IZS) by HI test.

The serological data showed that all birds were seronegative against the two avian influenza strains prior to vaccination and that all unvaccinated birds remained seronegative throughout the study.

25

H5N9 Serological Results

Results obtained in our laboratories were generally higher than at the IZS but were within 2-4 dilutions (see Table 1 below). Two weeks after the first vaccination with vaccine containing 128 or 256 HA units all ten vaccinates had a titre of at least
30 16 HI units (our data) and 4 HI units (IZS). The second dose of vaccine induced a

strong anamnestic response to H5N9 in all chickens and two weeks later titres of at least 64 HI units were seen in all birds receiving the higher titred vaccine.

H7N1 Serological Results

5 Results obtained in our laboratories were again generally higher than at the IZS but the difference of 3 – 8 fold was greater than for H5N9. In any case, taking the more conservative titres from the IZS results, it is clear that two weeks after the first vaccination all chickens receiving vaccine with 128 or 256 HA units had a titre of at least 8 HI units. The second dose of vaccine induced a very strong anamnestic
 10 response to H7N1 in all chickens and two weeks later titres of at least 512 HI units were seen in all birds receiving the higher titred vaccine.

These results indicates that POULVAC I-AI H5N9, H7N1 can induce titres against H5N9 and H7N1 above the level of 1:16 which is considered to be protective
 15 by the European Council (Council Directive 92/40/EEC).

TABLE 1
 Summary comparison of HI titres between Fort Dodge Veterinaria S.A. (FD)
 and in Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSV)

20

HI geometric mean titers

Antigen concentration	Age in weeks	HI titers			
		H5N9		H7N1	
		FD	IZSV	FD	IZSV
256 HAU for each subtype	2w	1	1	1	1
	4w	59.7	27.9	274.4	52
	6w	1910.8	388	8780	1910.8
	10w	73.5	PR	274.4	PR
	14w	26	PR	168.9	PR
128 HAU for each subtype	2w	1	1	1	1
	4w	39.4	13	274.4	32
	6w	831.8	268	4390	831.8
	10w	69.1	PR	276.5	PR
	14w	50.8	PR	74.7	PR
	2w	1	1	1	1

66
0002

64 HAU for each subtype	4w	19.7	4.3	90.5	8
	6w	861	207.9	2786.9	338
	10w	42.2	PR	111.4	PR
	14w	34.3	PR	64	PR
32 HAU for each subtype	2w	1	1	1	1
	4w	4.6	1.87	13	2.1
	6w	445.7	111.4	2048	157.6
	10w	34.8	PR	52	PR
	14w	27.4	PR	47	PR
Unvaccinated	2w	1	1	1	1
	4w	1	1	1	1
	6w	1	1	1	1
	10w	1	PR	1	PR
	14w	1	PR	1	PR

FD: HI TITERS OBTAINED IN FORT DODGE VETERINARIA S.A.
IZSV: HI TITERS OBTAINED IN ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLE VENEZIE

- 5 2 W: AGE AT FIRST VACCINATION AND BLEEDING
4 W: AGE AT SECOND VACCINATION AND BLEEDING
6 W: TWO WEEKS, 8 WEEKS, 10 WEEKS OR 14 WEEKS AFTER SECOND VACCINATION AND BLEEDING

- 10 PR: Pending results
For calculation purposes, if a serum had no titer, it was considered that it had a titer 1

2. Efficacy Study

- 15 The efficacy of POULVAC I-AI H5N9, H7N1 in chickens has been evaluated by the following procedure.

- 20 110-A1-E-14-04. Twenty SPF chickens were vaccinated intramuscularly at two weeks of age with a single dose of 0.5 ml formulated at minimum titre (128 HA units) for both antigens. A second dose of vaccine was given 3 weeks later when the birds were 5 weeks of age. Twenty similar chickens were kept as unvaccinated controls for comparison. Blood samples were taken prior to each vaccination and three weeks after the second vaccination to monitor the serology. Samples of sera were evaluated using a haemagglutination inhibition (HI test) in-house and were also evaluated at the Istituto Zooprofilattico Sperimentale (IZS) by HI test.

The serological data showed that all birds were seronegative against the two avian influenza strains prior to vaccination and that all unvaccinated birds remained seronegative throughout the study.

5 **H5N9 Serological Results**

Results obtained at our laboratories were generally higher than at the IZS but were within 2-4 dilutions (see table 2 below). Three weeks after the first vaccination all twenty vaccinates had a titre of at least 128 HA units (our data) and 64 HA units (IZS). This indicates that a single dose of POULVAC I-AI H5N9, H7N1 can induce
10 titres against H5N9 above the level of 1:16, which is considered to be protective by the European Council (Council Directive 92/40/EEC).

The second dose of vaccine induced a strong anamnestic response to H5N9 in all chickens and is again indicative that good protection will be seen against challenge.

15

H7N1 Serological Results

Results obtained at our laboratories were again generally higher than at the IZS but the difference of 3 – 8 fold was greater than for H5N9. It is not yet known why this difference in testing is so wide. In any case, taking the more conservative
20 titres from the IZS results, it is clear that three weeks after the first vaccination all twenty vaccinates had a titre of at least 128 HA units. This indicates that a single dose of POULVAC I-AI H5N9, H7N1 can induce titres against H7N1 significantly above the level of 1:16 which is considered to be protective by the European Council (Council Directive 92/40/EEC).

25 The second dose of vaccine induced a very strong anamnestic response to H7N1 in all chickens and is again indicative that good protection will be seen against challenge.

TABLE 2

30 Summary comparison of HI titres between Fort Dodge Veterinaria S.A. (FD) and in *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie* (IZSV)

HI expressed as geometric mean titers

	Age in	Avian Influenza subtypes
--	--------	--------------------------

67

0.0074

Antigen concentration	weeks	H5N9		H7N1	
		FD	IZSV	FD	IZSV
Group 1 Vaccinates	2w	1	1	1	1
	5w	374.8	163.1	955.4	304.4
	8w	1351.2	588.1	14263.1	1782.9
Group 2 Controls	2w	1	1	1	1
	5w	1	1	1	1
	8w	1	1	1	1

For calculation purposes, if a serum had no titer, it was considered that it had a titer 1.

COMPARATIVE EXAMPLE 2

5 For this example, reference is made to two published texts: Reference 1: Capua et al., Developments of a DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals) Strategy Using a Vaccine Containing a Heterologous Neuraminidase for the Control of Avian Influenza; Avian Pathology 32, 47-55 (2003); and Reference 2: Ellis et al., Vaccination of Chickens Against H5N1 Avian Influenza in the Face of an
10 Outbreak Interrupts Virus Transmission. Reference 1 notes that birds vaccinated with 2 doses of a competitor's vaccine H7N3 at age 2 and 4 weeks had serology at 6 weeks with a geometric mean titre of 45 as measured by HI, with 11 out of 13 birds achieving titres greater than 1:16 HI (deemed to be protective). Birds vaccinated once at 3 weeks of age with serology taken at week 6 showed a geometric titre of 19
15 as measured by HI. In this case, only 8 out of 13 birds achieved HI titres greater than 1:16. In contrast, the H7N1 fraction results described herein are considerably higher than this on both a single and double dose program. Reference 2 notes birds vaccinated with 1 dose of another competitor's influenza vaccine in birds ranging from 56-99 days old. 15 days post vaccination, the geometric mean titre was 11.7 as
20 measured by HI, with 32 out of 60 birds showing an HI titre of 1:16 or greater. 22 days post vaccination, the geometric mean titre was 33.9, as measured by HI, with 49 out of 60 birds showing HI titres of 1:16 or greater. The results obtained herein, however, seem to demonstrate greater efficacy.

25

EXAMPLE 3

POULVAC XXX EFFICACY TRIAL FOR PROPHYLACTIC VACCINATION IN TURKEYS

EXECUTIVE SUMMARY OF RESULTS

General Information

- 5 • **PERFORMED AT THE ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLE VENEZIE, PADOVA, ITALY WHICH IS OIE AND NATIONAL REFERENCE LABORATORY FOR AI AND ND**
- 10 • **TRIAL WAS BASED ON PREVIOUS WORK BUT WAS DEVELOPED TO TEST THE EFFICAY OF POULVAC XXX AS A TOOL FOR PROPHYLACTIC VACCINATION AGAINST:**
 - 15 -**Re-emergence of a highly adapted virus (A/Ty/Italy/8000/H7N3/2002)**
 - Introduction of a novel strain with a low degree of adaptation to the domestic host (A/ty/Italy/H5N2/1980)**
 - Trial performed in chickens and turkeys with different infectious doses**

EXPERIMENTAL TRIAL

20 turkeys

- VACCINATED WITH POULVAC XX, 0.5ML/SC AT 8, 34, 60 DAYS OF AGE
- 4 EXPERIMENTAL GROUPS, 2 VACCINATED AND 2 UNVACCINATED
CHALLENGED 21 DAYS AFTER THIRD VACCINATION WITH 10⁶EID/50
IN 100 UL/INTRANASALLY
- 5 - LPAI A/ty/Italy/8000/2002/H7N3
- LPAI A/ty/Italy/H5N2/1998
- ONE GROUP OF UNVACCINATED CONTROLS
- SHEDDING (TRACHEAL AND CLOACAL SWABS COLLECTED ON DAYS
10 3,5,7,10,14,20), SEROLOGY AND CLINICAL SIGNS WERE EVALUATED

METHODS

- VIRUS ISOLATION ACCORDING TO EU DIRECTIVE 92/40/EC
- HAEMAGGLUTINATION INHIBITION TEST ACCORDING TO EU
15 DIRECTIVE 92/40/EC
- REALTIME RT-PCR ACCORDING TO CATTOLI ET AL., (2004), AVIAN
PATHOLOGY, 33(4), PP. 432-437.
- ANTI N ANTIBODY DETECTION TEST "DIVA" TEST ACCORDING TO
CAPUA ET AL., (2003) AVIAN PATHOLOGY 32 (1), 47-55

20

DEFINITIONS AND STATISTICAL TESTS

- INFECTION: COMBINATION OF VIROLOGICAL POSITIVITY BY RRT-
PCR (TRACHEAL OR CLOACAL) AND SEROCONVERSION AND
POSITIVITY TO "DIVA" TEST

- SEROCONVERSION: INCREASE OF AT LEAST 4 LOGS (PRE AND POST-CHALLENGE TITER)
- COMPARISON OF SHEDDING BETWEEN VACCINATED AND UNVACCINATED GROUPS: FISHER'S EXACT P
- 5 • COMPARISON OF PRE AND POST CHALLENGE TITERS: NONPARAMETRIC SIGN TEST (PRE-POST WITHIN THE SAME GROUP) AND WILCOXON (MANN-WHITNEY) TWO SAMPLES TEST (COMPARISON BETWEEN THE INCREASE IN TITER AMONG DIFFERENT GROUPS, IE TO ESTABLISH WHETHER THERE IS A
10 DIFFERENCE IN INCREASE IN TITER BETWEEN VACCINATED GROUP AND UNVACCINATED GROUP FOLLOWING CHALLENGE)

RESULTS

TURKEYS H5N2 10⁴ EID/50 CHALLENGE

- 15 1. COMPARISON BETWEEN THE INDICATORS OF ACHIEVEMENT OF INFECTION BETWEEN VACCINATED VS UNVACCINATED BIRDS

FISHER'S EXACT P= 0.0005 (<0.01)

20 SIGNIFICANT: THERE IS A STATISTICALLY SIGNIFICANT DIFFERENCE BETWEEN THE NUMBER OF BIRDS IN WHICH INFECTION WAS ACHIEVED IN VACCINATED VERSUS UNVACCINATED BIRDS

	Positive	Negative	Total
Vaccinated	1	9	10
Unvaccinated	9	1	10

25

69

n=178

2. COMPARISON BETWEEN SHEDDING LEVELS (CLOACAL AND TRACHEAL SWABS) IN VACCINATED VS UNVACCINATED BIRDS

FISHER'S EXACT P= 0.0005 (<0.01)

- 5 **Significant: In vaccinated birds shedding levels were significantly lower than unvaccinated birds**

	Positive	Negative	Total
Vaccinated	44	96	140
Unvaccinated	57	89	126

- 10 **3.COMPARISON BETWEEN HI TITER PRE AND POST CHALLENGE IN VACCINATED VS UNVACCINATED BIRDS**

NONPARAMETRIC SIGN TEST:

UNVACCINATED: H5N2 : P = 0.0039 (<0.01); H5N9: P = 0.0039 (<0.01)

VACCINATED: H5N2 : P = 0.1797 (>0.05); H5N9: P = 0.0039 (<0.01)

- 15

Significant: In vaccinated birds the rise in serologic titer to the challenge virus is not significant. In the unvaccinated birds instead there was a significant rise in titer.

	Prechallenge H5N2	Postchallenge H5N2	Prechallenge H5N9	Postchallenge H5N9
Vaccinated	7.2	9.8	6.0	6.9
Unvaccinated	0	8.5	0	6.2

WO 2006/041978

PCT/US2005/035925

* log 2

5 **TURKEYS H7N3 10⁴ EID/50 CHALLENGE**

**1.COMPARISON BETWEEN THE INDICATORS OF ACHIEVEMENT OF
INFECTION BETWEEN VACCINATED VS UNVACCINATED BIRDS**

FISHER'S EXACT P= 0.0001 (<0.01)

10 **SIGNIFICANT: THERE IS A STATISTICALLY SIGNIFICANT DIFFERENCE
BETWEEN THE ACHIEVEMENT OF INFECTION IN VACCINATED VERSUS
UNVACCINATED BIRDS**

	Positive	Negative	Total
Vaccinated	1	9	10
Unvaccinated	9	1	10

15

**2.COMPARISON BETWEEN SHEDDING LEVELS (CLOACAL AND TRACHEAL
SWABS) IN VACCINATED VS UNVACCINATED BIRDS**

20

FISHER'S EXACT P= 0.0000 (<0.01)

**Significant: In vaccinated birds shedding levels were significantly lower
than unvaccinated birds**

OK
n^o 20

	Positive	Negative	Total
Vaccinated	21	119	140
Unvaccinated	63	63	126

3. COMPARISON BETWEEN HI TITER PRE AND POST CHALLENGE IN VACCINATED VS UNVACCINATED BIRDS

5

NONPARAMETRIC SIGN TEST:

UNVACCINATED: H7N1 : P = 0.0039 (<0.01); H7N3: P = 0.0039 (<0.01)

VACCINATED: H7N1 : P = 0.0020 (<0.01); H7N3: P = 0.0215 (<0.05)

10 Non Significant: In vaccinated birds there was a significant rise in serologic titer to the challenge virus comparable to the one observed in the unvaccinated birds.

15

	Prechallenge H7N1	Postchallenge H7N1*	Prechallenge H7N3	Postchallenge H7N3
Vaccinated	8.4*	10.8	5.3	7.1
Unvaccinated	0	9	0	6.8

* log 2

20 *The higher serologic reactivity with the H7N1 virus is to be attributed to the particular strain of virus. In order to assess significance the tier of the challenge virus must be considered.

CONCLUSIONS – TURKEYS

- **POULVAC XXX IN A 3 SHOT PROGRAMME IS ABLE TO:**
 - 5 › **Significantly reduce number of infected birds, shedding and clinical signs with a 10^4 EID/50 challenge of an H7N3 strain endemic to the Italian turkey population**
 - 10 › **Significantly reduce the number of infected birds and shedding with 10^4 EID/50 challenge of an H5N2 strain selected to mimic a novel introduction**
- **PROPHYLACTIC VACCINATION IN TURKEYS HAS RESULTED IN A LOWER SUSCEPTIBILITY OF THE GROUP TO EXPERIMENTAL INFECTION AND IN SIGNIFICANTLY LOWER SHEDDING LEVELS**

15

EXAMPLE 4

Poulvac XXX efficacy trial for prophylactic vaccination in chickens

71
n2n02**EXECUTIVE SUMMARY OF RESULTS****General Information**

- 5 • **PERFORMED AT THE ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLE VENEZIE, PADOVA, ITALY WHICH IS OIE AND NATIONAL
REFERENCE LABORATORY FOR AI AND ND**
- **TRIAL WAS BASED ON PREVIOUS WORK BUT WAS DEVELOPED TO
TEST THE EFFICACY OF POULVAC XXX AS A TOOL FOR
PROPHYLACTIC VACCINATION AGAINST:**
 - 10 -Re-emergence of a highly adapted virus
(A/Ty/Italy/8000/H7N3/2002)
 - Introduction of a novel strain with a low degree of
adaptation to the domestic host (A/ty/Italy/H5N2/1980)
 - 15 -Trial performed in chickens and turkeys with different
infectious doses

EXPERIMENTAL TRIAL**CHICKENS**

- 20 • **VACCINATED WITH POULVAC XX, 0.5ML/IM AT 2 AND 5 WEEKS OF
AGE**
- **4 EXPERIMENTAL GROUPS, 2 VACCINATED AND 2 UNVACCINATED
CHALLENGED 21 DAYS AFTER SECOND VACCINATION WITH 10⁶
EID/50 IN 100 UL/INTRANASALLY**
 - LPAI A/ty/Italy/8000/2002/H7N3
 - 25 -LPAI A/ty/Italy/H5N2/1980
- **ONE GROUP OF UNVACCINATED CONTROLS**
- **SHEDDING (TRACHEAL AND CLOACAL SWABS COLLECTED ON DAYS
3,5,7,10,14,20), SEROLOGY AND CLINICAL SIGNS WERE EVALUATED**

METHODS

- VIRUS ISOLATION ACCORDING TO EU DIRECTIVE 92/40/EC
 - HAEMAGGLUTINATION INHIBITION TEST ACCORDING TO EU
5 DIRECTIVE 92/40/EC
 - REALTIME RT-PCR ACCORDING TO CATTOLI ET AL., (2004), AVIAN
PATHOLOGY, 33(4), PP. 432-437.
 - ANTI-N ANTIBODY DETECTION TEST "DIVA" TEST ACCORDING TO
CAPUA ET AL., (2003) AVIAN PATHOLOGY 32 (1), 47-55
- 10 DEFINITIONS AND STATISTICAL TESTS
- INFECTION: COMBINATION OF VIROLOGICAL POSITIVITY BY RRT-
PCR (TRACHEAL OR CLOACAL) AND SEROCONVERSION AND
POSITIVITY TO "DIVA" TEST
 - SEROCONVERSION: INCREASE OF AT LEAST 4 LOGS (PRE AND POST-
15 CHALLENGE TITER)
 - COMPARISON OF SHEDDING BETWEEN VACCINATED AND
UNVACCINATED GROUPS: FISHER'S EXACT P
 - COMPARISON OF PRE AND POST CHALLENGE TITERS:
NONPARAMETRIC SIGN TEST (PRE-POST WITHIN THE SAME GROUP)
20 AND WILCOXON (MANN-WHITNEY) TWO SAMPLES TEST
(COMPARISON BETWEEN THE INCREASE IN TITER AMONG
DIFFERENT GROUPS, IE TO ESTABLISH WHETHER THERE IS A
DIFFERENCE IN INCREASE IN TITER BETWEEN VACCINATED GROUP
AND UNVACCINATED GROUP FOLLOWING CHALLENGE)

25

RESULTS

CHICKENS H5N2 10⁶ EID/50 CHALLENGE**1. COMPARISON BETWEEN THE INDICATORS OF ACHIEVEMENT OF
INFECTION BETWEEN VACCINATED VS UNVACCINATED BIRDS****FISHER'S EXACT P= 0.0433 (<0.05)****Significant: In vaccinated birds infection was not achieved**

	Positive	Negative	Total
Vaccinated	0	10	10
Unvaccinated	4	6	10

**2. COMPARISON BETWEEN SHEDDING LEVELS (CLOACAL AND TRACHEAL
SWABS) IN VACCINATED VS UNVACCINATED BIRDS****FISHER'S EXACT P= 0.0008 (<0.01)****Significant: In vaccinated birds shedding levels were significantly lower
than unvaccinated birds - (because infection was not achieved)**

	Positive	Negative	Total
Vaccinated	0	140	140
Unvaccinated	10	130	140

3.COMPARISON BETWEEN HI TITER PRE AND POST CHALLENGE IN VACCINATED VS UNVACCINATED BIRDS

NONPARAMETRIC SIGN TEST:

UNVACCINATED: H5N2 : P = 0.0078 (<0.01); H5N9: P = 0.0078 (<0.01)

5

VACCINATED: H5N2 : P = 0.4531 (>0.05); H5N9: P = 0.6875 (>0.05)

Significant: In vaccinated birds the rise in serologic titer to the challenge virus is not significant (because infection was not achieved). In the unvaccinated birds instead there was a significant rise in titer.

	Prechallenge H5N2	Postchallenge H5N2	Prechallenge H5N9	Postchallenge H5N9
Vaccinated	8.9*	9.8	7.7	8.5
Unvaccinated	0	4.1	0	4.1

10 * log 2

CHICKENS H7N3 10⁶ EID/50 CHALLENGE

1.COMPARISON BETWEEN THE INDICATORS OF ACHIEVEMENT OF INFECTION BETWEEN VACCINATED VS UNVACCINATED BIRDS

15

FISHER'S EXACT P= 0.0015 (<0.01)

Significant: In vaccinated birds infection was not achieved

	Positive	Negative	Total
Vaccinated	0	10	10
Unvaccinated	7	3	10

73
n^o 266

2.COMPARISON BETWEEN SHEDDING LEVELS (CLOACAL AND TRACHEAL SWABS) IN VACCINATED VS UNVACCINATED BIRDS

FISHER'S EXACT P= 0.0000 (<0.01)

- 5 Significant: In vaccinated birds shedding levels were significantly lower than unvaccinated birds – (because infection was not achieved)

	Positive	Negative	Total
Vaccinated	2	138	140
Unvaccinated	25	115	140

3. COMPARISON BETWEEN HI TITER PRE AND POST CHALLENGE IN VACCINATED VS UNVACCINATED BIRDS

10

NONPARAMETRIC SIGN TEST:

UNVACCINATED: H7N1 : P = 0.0020 (<0.01); H7N3: P = 0.0020 (<0.01)

VACCINATED: H7N1 : P = 0.0020 (<0.01); H7N3: P = 1.0000 (>0.05)

- 15 Significant: In vaccinated birds there was not a significant rise in serologic titer to the challenge virus (because infection was not achieved). In the unvaccinated birds instead there was a significant rise in titer.

	Prechallenge H7N1	Postchallenge H7N1*	Prechallenge H7N3	Postchallenge H7N3
Vaccinated	8.4*	10.8	6.1	6.1
Unvaccinated	0	5	0	3.5

20 * log 2

*The higher serologic reactivity with the H7N1 virus is to be attributed to the particular strain of virus. In order to assess significance the tier of the challenge virus must be considered.

5 CONCLUSIONS – CHICKENS

- **POULVAC XXX IN A 2 SHOT PROGRAMME IS ABLE TO**

- › Prevent infection with 10^6 EID/50 of an H7N3 strain endemic to the Italian turkey population
- 10 › Prevent infection with 10^6 EID/50 of an H5N2 strain selected to mimic a novel introduction

- **PROPHYLACTIC VACCINATION IN CHICKENS HAS PREVENTED THE ESTABLISHMENT OF ACTIVE INFECTION IN CHICKENS**

15

While the invention has been described in each of its various embodiments, it is expected that certain modifications thereto may be undertaken and effected by the person skilled in the art without departing from the true spirit and scope of the invention, as set forth in the previous description and as further embodied in the following claims.

20

... 8 74

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A vaccine composition which is effective in preventing or ameliorating Avian Influenza Virus infection, which comprises at least two inactivated strains of avian influenza virus, wherein the combined haemoagglutinin (HA) total is at least
5 about 200 HA/dose of said vaccine composition, and wherein each of said strains presents at least about 128 HA/dose, and further wherein one of said strains has the same HA subtype as that of a challenge virus, and wherein at least one of said strains has a different NA subtype than said challenge virus.
2. The vaccine composition of claim 1, further comprising a
10 pharmacologically acceptable carrier.
3. The vaccine composition of claim 2, further comprising at least one additional poultry antigen.
4. The vaccine composition of claim 3, wherein said carrier is at least one member selected from the group consisting of aqueous carriers and emulsions.
- 15 5. The vaccine composition of claim 4, wherein said carrier is a water-in-oil emulsion.
6. The vaccine composition of claim 5, wherein said emulsion comprises at least two surfactants.
7. The vaccine composition of claim 6, wherein said surfactants are selected
20 from the group consisting of sorbitan oleate esters and ethylene oxide/propylene oxide block copolymers.
8. The vaccine composition of claim 7, wherein said emulsion comprises at least two sorbitan oleate esters.
9. The vaccine composition of claim 8, wherein said esters are TWEEN® 80
25 and sorbitan sesquioleate ester.
10. The vaccine composition of claim 1, wherein said antigen is selected from the group consisting of virus antigens which are inactivated in a water bath.

11. A method of preventing or ameliorating an outbreak of Avian Influenza virus infection, which comprises administering to a poultry member a vaccine composition which comprises at least two inactivated strains of avian influenza virus, wherein the combined haemoagglutinin (HA) total is at least about 200 HA/dose of
5 said vaccine composition, and wherein each of said strains presents at least about 128 HA/dose, and further wherein one of said strains has the same HA subtype as that of a challenge virus, and wherein at least one of said strains has a different NA subtype than said challenge virus.

12. The method of claim 11, wherein said vaccine composition is
10 administered via drinking water or spraying.

13. The method of claim 11, wherein said dose is within the range of about 0.25 mL to 2.0 mL per poultry member.

14. The method of claim 13, wherein said vaccine is administered in no more than one dose.

15 15. A vaccine composition which is effective in preventing or ameliorating Avian Influenza Virus Infection, which comprises at least two inactivated strains of avian influenza virus, wherein the combined haemoagglutinin (HA) total is at least about 250 HA/dose of said vaccine composition, and wherein each of said strains presents at least about 150 HA/dose, and further wherein one of said strains
20 same HA subtype as that of a challenge virus, and wherein at least one of said strains has a different NA subtype than said challenge virus, and also wherein said composition contains two surfactants consisting essentially of sorbitan oleate esters.

16. The composition of claim 15, wherein said surfactants are TWEEN® 80 and sorbitan sesquileate ester.

25 17. The composition of claim 15, wherein each of said strains presents about 192 HA/dose.

18. The composition of claim 15, wherein said composition results in a geometric mean titre of greater than about 33.9 at about 22 days post-inoculation,

no 280 75

with greater than about 49 out of 80 poultry members having an HI titre of at least about 1:16.

19. The composition of claim 15, wherein said strains are identified as H5N9 and H7N1, respectively.

5 20. The composition of claim 15, wherein the total HA/dose is at least about 300.

VACUNAS MULTIVALENTES CONTRA LA INFLUENZA AVIAR**CAMPO DE LA INVENCION**

5 La presente invención se relaciona con vacunas multivalentes contra la influenza aviar útiles para vacunar aves susceptibles frente a un brote de la enfermedad. La invención también se relaciona con nuevos métodos para impedir y mejorar la enfermedad viral de la influenza aviar en las
10 aves de corral.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

 La influenza aviar también llamada "AI", es una infección
15 viral aguda y altamente contagiosa de los pollos y de otras aves. Como un virus de la influenza, este se clasifica en subtipos sobre la base de diferencias de antígeno en la hemoaglutinina (HA; también se puede abreviar como H) y la neuroaminidasa (NA; también se puede abreviar como N), las
20 cuales "se reafirman" o "mutan" de tiempo en tiempo. Debido a que esta muta constantemente, la preparación de la vacuna es difícil debido a lo impredecible en cuanto a qué cepa reaparecerá en la siguiente estación. Las cepas usadas para la preparación de la vacuna frecuentemente no se reproducen bajo
25 condiciones de fabricación a una velocidad muy rápida, de modo

.. 4 00202 77

que esperar a la aparición de una cepa particular, y luego fabricar la vacuna correcta para protegerse contra la cepa no suministra una opción viable. Típicamente, la epidemia de una cepa particular durará varios meses, y entonces quizás
5 desaparece durante varios años.

La erradicación es el método principal para controlar la enfermedad en las aves, con las obvias desventajas económicas, pero si se pudiera producir una vacuna con un rápido inicio de
10 inmunidad, tal producto ofrecería una alternativa viable al sacrificio en masa de todo el grupo de aves.

Los virus de la influenza se conocen y clasifican en diversas topologías A, B, C, de acuerdo con el grupo de
15 antígeno que el virus porta. Los virus de la influenza de los tipos A, B, C se pueden distinguir uno del otro con base en las diferencias de antígeno que se pueden encontrar en los nucleocápsidos virales (NP) y las proteínas de matriz (M). En particular, los virus de la influenza tipo A se pueden
20 clasificar en subtipos sobre la base de diferencias de antígeno en las moléculas de hemoaglutinina (HA) y neuroaminidasa (NA). Actualmente nueve subtipos de las proteínas de neuroaminidasa NA, designadas NA1 hasta NA9, y quince subtipos diferentes de las proteínas del suero de la
25 hemoaglutinina (HA), designadas como HA1 hasta HA15, se han

identificado. En aves, los virus que portan cualquiera de los varios subtipos HA (o H) y NA o (N) se han aislado.

El HA es una glicoproteína de superficie viral que
5 comprende aproximadamente 560 aminoácidos y representa el 25% de la proteína de virus total. Es principalmente responsable por la adhesión de la partícula viral a la célula hospedadora y de su penetración en esta última en etapas tempranas de la infección. La hemoaglutinina, entre las proteínas virales, es
10 una que está más sujeta a reacondicionamientos post-traduccionales. Después de que la síntesis de la misma se ha completado, la molécula sigue el trayecto exocitótico de la célula hospedadora, en el curso de la cual el HA se dobla, ensambla en trímeros y se glicosila. Finalmente este es
15 dividido en dos subunidades HI y H2; esta división es la etapa clave en la activación de la molécula y en la adquisición de la capacidad infectiva por el virión.

Es bien conocido, de hecho, que la composición diferente
20 del sitio de división, con respecto a los residuos de aminoácido básicos, se traduce en la capacidad del virus de la influenza aviar para producir infecciones localizadas, o sintomáticas, o viceversa, infecciones generalizadas que tienen un resultado letal para muchas especies de aves. Por lo
25 tanto se ha sugerido que este hecho puede influir el

- 0020: 79

organotropismo, la especificidad del anfitrión, lo mismo que la patogenicidad del virus. Con respecto a la patogenicidad del virus, las cepas con sitios multibase HA encuentran proteasas que dividen la molécula HO, en la forma activa Hi y H2 en diversos tipos celulares dando inicio así a ciclos de inducción múltiples con una producción masiva de 25 partículas virales infecciosas y causando una generalización de las infecciones en todos los distritos dentro de un corto periodo de tiempo (cepa HPAI). La infección consecuentemente tendrá un curso agudo-hiperagudo, con una mortalidad muy alta.

La neuroaminidasa (NA) representa la segunda glicoproteína de membrana de los virus de la influenza A. Esta se codifica por un gen (segmentos 6 del ARN del virus) de una longitud de 1413 nucleótidos que codifican para un péptido de 413 aminoácidos. Esta proteína tiene por lo menos dos funciones importantes: la destrucción del receptor celular para la hemoaglutinina viral al dividirse entre una molécula de ácido siálico y la hemoaglutinina misma. De esta manera se supone que hay facilidad posiblemente de liberación de la progenie viral al impedir que se formen nuevas partículas virales de la acumulación a lo largo de la membrana celular, lo mismo que promover el transporte del virus por el moco que está presente en la superficie mucosal. El NA representa

además un determinante de antígeno importante que está sujeto a variaciones antigénicas.

Existe actualmente una necesidad en la técnica de encontrar vacunas contra la influenza aviar que pudieran suministrar una alternativa útil a la erradicación de las aves infectadas. Tales vacunas necesitarían producir una respuesta inmune rápida en las aves vacunadas, y preferiblemente permitirían a las aves vacunadas ser capaces de ser diferenciadas de las aves infectadas. Las vacunas bivalentes o polivalentes de la influenza aviar han postulado para ser utilizables en los métodos llamados "DIVA", en donde se administra una vacuna que tiene un N diferente de la cepa contra la cual está siendo vacunada de modo que se suministre un medio para diferenciar las aves vacunadas de las infectadas. La publicación PCT WO 03/086453, cuya divulgación se incorpora en su totalidad aquí como referencia, describe la tecnología de DIVA, y algunas vacunas representativas utilizables en los métodos de la misma.

20

Las vacunas combinadas o multivalentes ofrecen un número de ventajas obvias sobre las vacunas monovalentes. Una ventaja de una vacuna multivalente es que se requieren menos inoculaciones de la vacuna. Una preparación única puede ser administrada en una sola inoculación y es efectiva contra

25

varias enfermedades o cepas de una única enfermedad. A medida que el rango de cepas virales potenciales se incrementa, la combinación de las vacunas se vuelve aún más obligatoria para poder minimizar el número de inoculaciones. El número reducido de inoculaciones necesarias cuando se combinan vacunas podrían conducir posiblemente a un aumento de logros del programa de vacunación. Esto a su vez llevaría posiblemente a un incremento resultante en el cubrimiento de la vacuna, lo que en últimas llevaría a un mejor control de la enfermedad.

10

Un problema inesperado de las vacunas combinadas es la influencia negativa recientemente identificada que una vacuna puede tener en otra o en una combinación de vacunas el efecto llamado "interferencia de antígeno". Se ha encontrado que cuando dos vacunas que existen son simplemente mezcladas, una o ambas pueden perder su potencia (Andre, F.E., "Development of Combined Vaccines: Manufacturers' Viewpoint," *Biologicals* 22:317-321 (1994); Hadler, S.C., "Cost benefit of combining antigens," *Biologicals* 22:415-418 (1994); Goldenthal, K, L., et al., "Overview - Combination Vaccines and Simultaneous Administration. Past, Present, and Future." En: *Combined Vaccines and Simultaneous Administration, Current Issues and Perspectives* (Eds. Williams, J.C., et al.) The New York Academy of Sciences, Nueva York, pp. 1 XI-XV (1995); Clemens, J., et al., "Interactions between PRP-T Vaccine against

25

Hemophilus influenzae Type b and Conventional Infant Vaccines
Lessons for Future Studies of Simultaneous Immunization and
Combined Vaccines. "En: *Combined Vaccines and Simultaneous
Administration. Current Issues and Perspectives* (Eds.
5 Williams, J.C., et al.) The New York Academy of Sciences,
Nueva York, pp. 255-266 (1995); Insel, R.A., "Potential
Alterations in Immunogenicity by Combining or Simultaneously
Administering Vaccine Component". En: *Combined Vaccines and
Simultaneous Administration. Current Issues and Perspectives*
10 (Eds. Williams, J.C., et al.) The New York Academy of
Sciences, Nueva York, pp. 35-47 (1995)).

Desafortunadamente, no siempre se puede predecir mediante
el uso de ensayos de potencia actualmente establecidos en el
15 laboratorio si los componentes individuales de la vacuna
retendrán su potencia. Por ejemplo, diversos estudios
independientes informaron que cuando la vacuna Hib se combina
con una vacuna completa de células pertussis no hay
interferencia entre las dos vacunas pero cuando la vacuna Hib
20 se combina con vacunas acelulares de pertussis existe una
pérdida sustancial de la inmunogenicidad del Hib. Se ha
mostrado que cuando el Hib se combina con DTap. Este mantiene
su inmunogenicidad si se da en sitios separados, mientras que
la inmunogenicidad es disminuida entre 5 a 15 veces cuando las
25 vacunas administradas combinadas se dan en el mismo sitio.

Este resultado inesperado confirma que combinar dos vacunas existentes pueden no ser un proceso simple o de rutina, y tal combinación frecuentemente da resultados bastantes impredecibles que no se detectan durante los estudios
5 iniciales. Los estudios se requieren para documentar la no interferencia, frecuentemente agregan meses o años adicionales a los estudios de documentación de no interferencia, y la adecuabilidad para su uso.

10 Las vacunas de la influenza aviar divalentes, han estado disponibles en el mercado, tales como las vacunas conocidas como Fluvac® comercializada por Merial, pero todavía existe una necesidad de vacunas contra la influenza aviar divalentes o polivalentes mejoradas, que invoquen una respuesta inmune
15 rápida, y una respuesta de más alto título, y que por lo tanto sean utilizadas para proteger rápidamente las aves frente a un brote de la enfermedad.

RESUMEN DE LA INVENCION

20

En un aspecto, la invención se dirige a una composición de vacuna que es efectiva para prevenir o mejorar la influenza aviar, y que se puede utilizar en la tecnología de DIVA, y que además tiene las ventajas de suministrar un inicio rápido de
25 la respuesta inmune, lo que comprende una rata de HA/dosis

mayor a 200 HA/dosis, más preferiblemente por lo menos cerca de 256 HA/dosis, y más preferiblemente en el rango entre 250-300 HA/dosis, y aún más deseablemente entre cerca de 256-300 HA/dosis. También se ha contemplado tener por lo menos 300
5 HA/dosis en la composición de vacuna de la invención.

Así, la invención suministra una composición de vacuna que comprende por lo menos dos cepas de influenza aviar en donde la HA/dosis combinada es mayor a cerca de 200 HA/dosis, más
10 preferiblemente por lo menos cerca de 256 HA/dosis, y preferiblemente esta en cerca de 250 a 300 HA/dosis, más preferiblemente cerca de 256 a 300 HA/dosis. La cantidad de la HA/dosis de cada una de las cepas de influenza aviar puede variar, pero típicamente está por lo menos cerca a 75
15 HA/dosis, y más preferiblemente es mayor a cerca de 128 HA/dosis.

Las cepas de influenza aviar particulares escogidas para la vacuna bivalente o multivalente de la presente invención,
20 son dependientes de la cepa particular prevalente en el área en donde la vacuna va a ser administrada. Más preferiblemente, una de las cepas tendrá un subtipo de HA idéntico al subtipo de HA de la cepa prevalente o inoculada y un componente N diferente de modo que permita el uso de la tecnología de DIVA.
25 Las cepas adicionales pueden ser seleccionadas de otros

subtipos HA que tengan una incidencia en el área que va a ser tratada, nuevamente preferiblemente con un subtipo N diferente.

5 Como una parte adicional de la invención se ha suministrado una composición de vacuna que es efectiva para prevenir o mejorar la infección del virus de la influenza aviar, que comprende por lo menos dos cepas inactivadas de virus de la influenza aviar, en donde la hemoaglutinina
10 combinada (HA) total es de por lo menos cerca de 200 HA/dosis de la composición de la vacuna, preferiblemente por lo menos cerca de 256 HA/dosis, y en donde cada una de las cepas presentes en por lo menos cerca de 128 HA/dosis y adicionalmente en donde una de las cepas tiene el mismo
15 subtipo de HA que el virus provocador, y en donde por lo menos una de las cepas tiene un subtipo NA diferente al del virus provocador.

También se ha suministrado aquí un método para impedir o
20 mejorar un brote de la infección del virus de la influenza aviar, que comprende administrar a un miembro de las aves una composición de vacuna que contiene por lo menos dos cepas inactivadas del virus de la influenza aviar, en donde la hemoaglutinina combinada (HA) total es de por lo menos cerca
25 de 200 HA/dosis de la composición de vacuna, preferiblemente

cerca de 256 HA/dosis, y en donde cada una de las cepas presentes está en por lo menos cerca de 128 HA/dosis, y adicionalmente en donde una de las cepas tiene el mismo subtipo HA que el del virus provocador, y en donde por lo
5 menos una de las cepas tiene un subtipo NA diferente al del virus provocador.

También se ha suministrado una composición de vacuna que es efectiva para prevenir o mejorar la infección del virus de la
10 influenza aviar, que comprende por lo menos dos cepas inactivadas del virus de la influenza aviar, en donde la hemoaglutinina combinada (HA) total es de por lo menos cerca de 250 HA/dosis de la composición de vacuna y en donde cada una de las cepas presenta por lo menos cerca de 150 HA/dosis y
15 adicionalmente donde una de las cepas tiene el mismo subtipo HA que el del virus provocador, y en donde por lo menos una de las cepas tiene un subtipo NA diferente al del virus provocador, y también en donde la composición contiene dos tensoactivos que consiste esencialmente de ésteres de Sorbitán
20 oleato.

Estas y otras modalidades, características y ventajas de la invención serán más evidentes a partir de la descripción detallada y de las reivindicaciones adjuntas que se establecen
25 aquí adelante.

87

.w 02/02

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

En un aspecto, la presente invención se dirige a vacunas
5 polivalentes contra la influenza aviar que tienen un contenido
total de HA mayor que cerca de 200 HA/dosis y por lo menos
cerca de 256 HA/dosis con un rango preferido entre cerca de
256 a 300 HA/dosis. Es adicionalmente parte de la invención,
tener por lo menos cerca de 300 HA/dosis.

10

Aislados de la influenza aviar útiles para las vacunas de
la presente invención se pueden aislar usando técnicas
disponibles en el arte. Por ejemplo, se pueden obtener tejido
o suero de pollos infectados de las aves para asaderos
15 comerciales. El virus se puede pasar entonces en el tejido u
otro medio adecuado para establecer un virus de semilla
maestra. La caracterización adicional por aquellos versados en
la técnica puede también ser llevada a cabo usando los métodos
disponibles. Los virus se pueden inactivar usando métodos
20 disponibles, tal como tratamiento por calor o tratamiento
químico, por ejemplo.

En un aspecto adicional aquí, la invención también
comprende una composición de vacuna que contiene por lo menos
25 dos cepas de la influenza aviar.

88
07/03

La composición de la vacuna de la invención se pueden formular utilizando técnicas disponibles, preferiblemente con un vehículo farmacológicamente aceptable. Por ejemplo, en una 5 modalidad se contempla una formulación acuosa. Tales formulaciones utilizan agua, salina, o fosfato u otros amortiguadores adecuados. Todavía en otra modalidad, la composición de la vacuna es preferiblemente una emulsión de agua en aceite o de aceite en agua. También se han contemplado 10 emulsiones dobles, caracterizadas frecuentemente como emulsiones de agua en aceite o aceite en agua. El aceite puede ayudar a estabilizar la formulación y funciona adicionalmente como un adyuvante o mejorador. Aceites adecuados incluyen, sin limitación, aceite blanco, aceite de pato, escualano o 15 escualeno, lo mismo que otros aceites animales, vegetales o minerales, sean derivados naturalmente o de origen sintético.

En adición, la composición de la vacuna puede contener otros adyuvantes adecuados disponibles en la técnica. Estos 20 pueden incluir hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio, por ejemplo, así como también otras sales de metales.

También se pueden incluir excipientes adicionales en la composición de la vacuna, tales como tensoactivos, u otros 25 agentes humectantes o auxiliares de formulación. Los

... no 1/89

tensoactivos pueden incluir ésteres de mono-oleato Sorbitán (de la serie TWEEN®), lo mismo que los copolímeros de bloque de óxido de etileno/óxido de propileno (de la serie PLURONIC®), lo mismo que otros disponibles en la técnica.

5 Otros compuestos reconocidos como estabilizadores o preservativos también se pueden incluir en la vacuna. Estos compuestos incluyen, sin limitación carbohidratos, tales como sorbitol, manitol, almidón, sacarosa, dextrina o glucosa, y similares, lo mismo que la formalina preservativa, por
10 ejemplo.

La composición de la vacuna también se pueden formular como un polvo seco, sustancialmente libre de agua exógena, el cual puede entonces ser reconstituido por un usuario final
15 antes de su administración.

La composición de la vacuna se formula más preferiblemente utilizando virus muertos o inactivos. También se ha contemplado para uso aquí una vacuna recombinante que expresa
20 las proteínas HA requeridas en los niveles necesarios de modo que se suministre un contenido de HA total mayor a cerca de 200, y preferiblemente por lo menos cerca de 256, y más preferiblemente por lo menos cerca de 300.

La composición de la vacuna de la invención contendrá preferiblemente un mínimo de cerca de 200 HA total de sus componentes virales de la influenza. En una modalidad de la invención, la vacuna contendrá cerca de 128 HA/dosis de cada cepa, y aún más preferiblemente cerca de 192 HA/dosis de cada cepa.

También se pueden incluir otros antígenos de aves de corral contra otras enfermedades y administrar con la composición de la vacuna de la invención. Por ejemplo, los antígenos de vacuna contra el virus del herpes del pollo, el virus de la anemia del pollo (CAV), el virus de la enfermedad Newcastle, y el virus de la bronquitis infecciosa (IB), lo mismo que antígenos de reovirus también se pueden incluir como parte de la composición de la vacuna de la invención. Uno o más antígenos de reovirus se pueden preferir particularmente como parte de la composición de la vacuna de la invención.

La invención también se dirige a un método para inducir la protección contra la infección de virus de la influenza aviar. El método involucra administrar a un animal ave una composición de vacuna que contiene al menos dos cepas de virus de la influenza aviar con el contenido HA combinado de más de aproximadamente 200 HA/dosis, más preferiblemente al menos aproximadamente 256 HA/dosis, con 250 a 300 HA/dosis siendo

más particularmente preferida y aproximadamente 256-300 siendo
aún más preferida. El método puede además comprender al menos
aproximadamente 300 HA/dosis en una modalidad adicional.

5 El método de administración se puede seleccionar por el
experto. Por ejemplo, la composición de vacuna se puede
administrar a pollos jóvenes post incubación (pocos días a
varias semanas de edad) por vía del agua de beber, rociándolas
o en gotas para los ojos. Se contempla aquí la administración
10 in ovo. Por ejemplo, se pueden inocular embriones, usualmente
en aproximadamente el día 18-19. Otros métodos en donde la
composición de vacuna de la invención se administra
parenteralmente, subcutáneamente, peritonealmente, oralmente,
intranasalmente, o por otros medios disponibles,
15 preferiblemente parenteralmente, más preferiblemente
intramuscularmente, en cantidades efectivas de acuerdo con un
programa que se puede determinar de acuerdo al tiempo de
exposición potencial anticipado a un vehículo del virus de la
influenza aviar que causa la enfermedad, también están dentro
20 del alcance de la invención.

Una dosis está típicamente en el rango de aproximadamente
0.25 ml a aproximadamente 2.0 ml por animal ave, más
preferiblemente aproximadamente 0.5 ml a aproximadamente 1.0

92
11/17

ml por animal. Así, una, dos o más dosis se contemplan aquí, siendo particularmente preferidas tan pocas como sea posible.

Como se estableció anteriormente, la invención se dirige a
5 composiciones novedosas de vacuna contra la influenza aviar y métodos para uso de estas en aves. El término "aves" pretende comprender, sin limitación, todos los animales ave de raza comercial, incluyendo pollos, patos, gansos, pavos, pavo real, gallinas enanas, y similares.

10

EJEMPLOS

15 Los siguientes ejemplos ilustran varios aspectos preferidos de la invención, pero no se deben considerar de ninguna manera como limitante del alcance completo de esta.

EJEMPL 1

93
4 00/03

COMPOSICIÓN DEL PRODUCTO (POR DOSIS)

Nombre del Ingrediente	Cantidad	Función
<u>Ingredientes Activos</u>		
Virus de la Influenza Aviar Inactivado Cepa H5N9 A/CK/Italy/22A/H5N9/1998	≥ 128 HA	Ingrediente activo
Virus de la Influenza Aviar Inactivado, Cepa H7N1 A/CK/Italy/1067/H7N1/1999	≥ 128 HA	Ingrediente activo
<u>Constituyentes de los Adyuvantes</u>		
Aceite Mineral Ligero	230 mg	Adyuvante
Sesquioleato de Sorbitán (vegetal)	22.5 mg	Emulsificador
Polisorbato 80 (vegetal)	4.3 mg	Emulsificador
<u>Constituyente de los excipientes</u>		
Thiomersal	0.02 mg	Preservativo
Solución salina amortiguada de fosfato	Ad 0.5 ml	Diluyente

DESARROLLOS FARMACÉUTICOS

Las cepas incluidas en POULVAC® -1-A1 H5N9, H7N1

Las cepas, H5N9 del Virus de la Influenza Aviar y H7N1 del virus de la Influenza Aviar, para POULVAC i-AL H5N9, H7N1 se seleccionan con base en la prevalencia en el campo. Ambas cepas fueron suministradas por Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZS), Italia. Su eficacia se ha demostrado mediante las seroconversiones de pollos.

Adyuvante incluido en el POULVAC -i-AL H5N9, H7N1

10 El adyuvante se escogió con base en el efecto inmunoestimulador - establecido de emulsiones de aceite mineral, formuladas como emulsión de agua en aceite (A/A). Un aceite mineral farmacéutico grado ligero (NF) Drakeoil 5 se utiliza en la formulación.

15

Con el fin de lograr una emulsión de agua en aceite estable (A/A), es necesario utilizar tensoactivos. Los tensoactivos de Sesquioleato de Sorbitán (vegetal), un tensoactivo hidrófobo, y Polisorbato 80 (vegetal), un
20 tensoactivo hidrofílico, se escogieron por sus propiedades emulsificantes. El uso de una combinación de estos tensoactivos se ha mostrado ahora para resultar en una emulsión estable.

no. 15

Arlacel 83V = Sesquioleato de Sorbitán, una mezcla equimolar de monoésteres y diésteres;

Número CAS = 8007-43-9. Se utiliza en las preparaciones de
5 cremas, emulsiones y ungüentos.

Tween 80V = Polisorbato 80 = Polioxietileno 20 monooleato de Sorbitán;

10 Número CAS = 9005-65-6. Se utiliza en la preparación de emulsiones estables de aceite en agua.

Los ésteres de Sorbitán como el Arlacel 83V producen emulsiones A/A estables pero son frecuentemente utilizadas en
15 combinación con proporciones variables de un polisorbato como Tween 80V para producir una emulsión A/A.

Tanto el Arlacel 83V como el Tween 80V utilizados para formular el producto son de origen vegetal.

20

Volumen de dosis y programación de vacunación.

El volumen de dosis de 0.5 ml es común para el uso en la industria de aves.

25

.. 001/1⁹⁶

POULVAC i-H5N9, H7N1

Eficacia Basada en Estudios Serológicos

5 1. Estudio de Respuesta de la Dosis Exploratoria.

Un estudio de titulación de dosis exploratoria se llevó a cabo para determinar la respuesta del anticuerpo a los niveles HA de antígeno variante. Cuatro vacunas Experimentales que
10 contienen las concentraciones de antígeno de 256, 128, 64 a 32 unidades HA se preparan y cada una se utiliza para vacunar intramuscularmente 10 pollos SPF de dos a cuatro semanas de edad. Un grupo de 10 pollos similares se deja sin vacunar como control. Las muestras de sangre fueron tomadas antes de cada
15 vacunación y dos semanas, seis semanas, y diez semanas después de la segunda vacunación para monitorear la serología. Las muestras de suero se evalúan utilizando una inhibición de hemoaglutinación (ensayo HI) en casa y también se evaluaron en el Istituto Zooprofilattico Sperimentale (IZS) mediante ensayo
20 HI.

Los datos serológicos mostraron que todas las aves fueron seronegativas contra las dos cepas de influenza antes de la vacunación y que todas las aves no vacunadas permanecieron
25 seronegativas durante el estudio.

Resultados Serológicos de H5N9

Los resultados obtenidos en los laboratorios fueron
5 generalmente superiores que en el IZS pero tuvieron entre 2-4
diluciones (ver Tabla 1 adelante). Dos semanas después de la
primer vacunación con la vacuna que contiene 128 o 256
unidades HA todas las 10 vacunas tenían un título de al menos
16 unidades HI (datos Fort Dodge) y 4 unidades HI (IZS). La
10 segunda dosis de la vacuna indujo una fuerte respuesta
anamnésica al H5N9 en todos los pollos y dos semanas después
los títulos de al menos 64 unidades HI fueron vistos en todas
las aves que recibían la vacunación titulada superior.

15 Resultados Serológicos H7N1

Los resultados obtenidos en los laboratorios fueron de
nuevo generalmente superiores que el IZS pero la diferencia de
3 a 8 veces fue mayor que para el H5N9. En cada caso, teniendo
20 los títulos más conservadores de los resultados IZS, es claro
que dos semanas después de la primer vacunación todos los
pollos recibieron la vacuna con 128 o 256 unidades HA que
tenían un título de al menos 8 unidades HI. La segunda dosis
de la vacuna indujo una respuesta anamnésica fuerte al H7N1 en
25 todos los pollos y dos semanas después de los títulos de al

... n° 1/3 98

menos 512 unidades HI fueron vistas en todas las aves que reciben la vacuna titulada superior.

Estos resultados indican que el POULVAC i-A1 H5N9, H7N1 puede inducir títulos contra el H5N9 y el H7N1 por encima del nivel de 1:16 que es considerado protector por el Consejo Europeo (Directiva de Consejo de 99/40/EEC).

Tabla 1

Resumen de la Comparación DE Títulos HI entre Fort Dodge
Veterinaria S.A. (FD)
Y el Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
(IZSV)

Títulos medios geométricos HI

Concentración de Antígeno	Edad en semanas	Títulos HI			
		H5N9		H7N1	
		FD	IZSV	FD	IZSV
256 HAu para cada subtipo	2s	1	1	1	1
	4s	59.7	27.9	274.4	52
	6s	1910.8	388	8780	1910.8
	10s	73.5	PR	274.4	PR
	14s	26	PR	168.9	PR
128 HAu para cada Subtipo	2s	1	1	1	1
	4s	39.4	13	274.4	32
	6s	831.8	256	4390	831.8

... n.º 1/2 99

	10s	69.1	PR	276.5	PR
	14s	50.8	PR	74.7	PR
64 HAU para cada subtipo	2s	1	1	1	1
	4s	19.7	4.3	90.5	8
	6s	861	207.9	2786.9	338
	10s	42.2	PR	111.4	PR
	14s	34.3	PR	64	PR
32 HAU para cada subtipo	2s	1	1	1	1
	4s	4.6	1.87	13	2.1
	6s	445.7	111.4	2048	157.6
	10s	34.6	PR	52	PR
	14s	27.4	PR	47	PR
No vacunados	2s	1	1	1	1
	4s	1	1	1	1
	6s	1	1	1	1
	10s	1	PR	1	PR
	14s	1	PR	1	PR

FD: TÍTULOS HI OBTENIDOS EN FORT DODGE VETERINARIA S.A.

IZSV: TÍTULOS HI OBTENIDOS IN ISTITUTO ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE DELLE VENEZIE

5 2S: EDAD EN LA PRIMER VACUNACIÓN Y SANGRADO

4S: EDAD Y SEGUNDA VACUNACIÓN Y SANGRADO

6S:DOS SEMANAS, 6 SEMANAS, 10 SEMANAS O 14 SEMANAS DESPUÉS DE
LA SEGUNDA VACUNACIÓN Y SANGRADO.

10 PR: Resultados pendientes

Para propósitos de cálculo, si un suero no tiene título se considera que este tuvo un título 1.

2. Estudio de Eficacia

5

La eficacia del POULVAC i-A1 H5N9, H7N1 en pollos se ha evaluado por medio del siguiente procedimiento.

110-A1-E-14-04. Veinte pollos SPF fueron vacunados intramuscularmente a las dos semanas de edad con una dosis simple de 0.5 ml formulada a título mínimo (128 unidades HA) para ambos antígenos. Una segunda dosis de vacuna se da a las tres semanas después cuando las aves tenían cinco semanas de edad. Veinte pollos similares fueron mantenidos como controles no vacunados para comparación. Las muestras de sangre fueron tomadas antes de cada vacunación y tres semanas después de la segunda vacunación para monitorear la serología. Las muestras de suero se evalúan utilizando una inhibición de hemoaglutinación (ensayo HI) en casa y también se evalúan en el Istituto Zooprofilattico Sperimentale (IZS) mediante el ensayo HI.

Los datos serológicos mostraron que todas las aves fueron seronegativas contra las dos cepas de la Influenza Aviar antes

- n° 13

de la vacunación y que las aves no vacunadas permanecieron seronegativas durante el estudio.

Resultados Serológicos H5N9.

5

Los resultados obtenidos en los laboratorios fueron generalmente superiores que en el IZS pero estuvieron entre 2-4 diluciones (ver Tabla 2 adelante). Tres semanas después de la primer vacunación todas las veinte vacunaciones tenían un título de al menos 128 unidades HA (datos Fort Dodge) y 64 unidades HA (IZS). Esto indica que una dosis simple de POULVAC i-A1 H5N9, H7N1 puede inducir títulos contra H5N9 por encima del nivel de 1:16, que se considera como protector por el Consejo Europeo (Directiva del Consejo 92/40/EEC).

15

La segunda dosis de vacuna induce una fuerte respuesta anamnésica al H5N9 en todos los pollos y es de nuevo indicadora de que se verá la buena producción contra la inoculación.

20

Resultados Serológicos H7N1

Los resultados obtenidos en los laboratorios fueron de nuevo generalmente superiores que en el IZS pero la diferencia de 3-8 veces fue mayor para H5N9. Aún no se conoce porqué esta

25

no. 17 102

diferencia en el ensayo es tan amplia. En ningún caso, tomando los títulos más conservadores desde los resultados del IZS, es claro que tres semanas después de la primer vacunación todos los 20 vacunados tuvieron un título de al menos 128 unidades HA. Esto indica que la dosis simple del POULVAC i-A1 H5N9, H7N1 puede inducir títulos contra H7N1 significativamente por encima del nivel de 1.16 que se considera como protector por el Consejo Europeo (Directiva del Consejo 92/40/EEC).

10 La segunda dosis de vacuna indujo una muy fuerte respuesta anamnésica al H7N1 en todos los pollos y es de nuevo indicadora de que se verá una buena protección contra la inoculación.

15 TABLA 2

Resumen de Comparación de los Títulos HI Fort Dodge Veterinaria S. A. (FD) y el Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venèzie (IZSV)

20

Expresado HI como títulos de media geométrica

Concentración de Antígeno	Edad en semanas	Subtipos de la Influenza Aviar			
		H5N9		H7N1	
		FD	IZSV	FD	IZSV
Vacunado	2s	1	1	1	1

103
... 01118

Grupo 1	5s	374.8	163.1	955.4	304.4
	8s	1351.2	588.1	14263.1	1782.9
Control a Grupo 2	2s	1	1	1	1
	5s	1	1	1	1
	8s	1	1	1	1

Para propósitos de cálculo, si el suero no tiene título, se considera que tenía un título 1.

5

EJEMPLO COMPARATIVO 2

Para este ejemplo, se hace referencia a dos textos publicados: referencia 1: Capua et al., Developments of a DIVA (Differentiating infected from Vaccinated Animals) Strategy Using a Vaccine Containing a Herterologous Neuraminidase for the Control of Avian Influenza; Avian Pathology 32, 47-55 (2003); y referencia 2: Ellis et al., Vaccination of Chicken Against H5N1 Avian Influenza in the Face of an Outbreak Interrupts Virus Transmisión. La referencia 1 nota que las aves vacunadas con dos dosis de la vacuna del competidos H7N3 a la edad de dos y cuatro semanas y serología a las seis semanas con un título de media geométrica de 45 medida mediante HI, con 11 de 13 aves que alcanzan títulos superiores a 1: 16 HI (considerada como protectora). Las aves vacunadas una vez a las tres semanas de edad con serologías tomadas en la semana 6 mostraron un título geométrico de 19 como se mide

por HI. En este caso, solamente 8 de 13 aves lograron títulos HI mayores de 1: 16. En contraste, los resultados de la fracción H7N1 descrita aquí son considerablemente mayores que este programa de dosis única y doble. La referencia 2 nota
5 aves vacunadas con una dosis de vacuna para la influenza de otro competidor en aves que varían de 56-99 días de edad. 15 días post vacunación, el título de la media geométrica fue de 11.7 medido por HI, con 32 de 60 aves que muestran un título HI de 1:16 o mayor. 22 días post vacunación, el título de la
10 media geométrica fue de 33.9, medido mediante HI, con 49 a 60 aves que muestra los títulos HI de 1:16 o mayor. Los resultados obtenidos aquí sin embargo, parecen demostrar mayor eficacia.

15

EJEMPLO 3

ENSAYO DE EFICACIA DE POULVAC XXX PARA VACUNACIÓN PROFILÁCTICA EN PAVOS.

20 **Resumen de los resultados.** Este ensayo se desarrolló en el Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Padova Italia que es OIE y el Laboratorio de Referencia Nacional para AI y ND. El ensayo se basa en trabajo previo pero se desarrolla para evaluar la eficacia del Poulvac XXX como una
25 herramienta para vacunación profiláctica contra re-emergencia

de un virus altamente adaptado (A/Ty/Italy/8000/H7N3/2002).
Hubo una introducción a una cepa novedosa con un bajo grado de
adaptación al huésped doméstico (A/Ty/Italy/H5N2/1980). El
ensayo se desarrolla en pollos y pavos con diferentes dosis de
5 infección.

ENSAYO EXPERIMENTAL

Se vacunan pavos con Poulvac XXX, 0.5 ml/sc a 8, 34, 60
10 días de edad. Hubo 4 grupos experimentales 2 vacunados y 2 no
vacunados, inoculados 21 días después de la tercera vacunación
con 10^4 EID/50 en 100 μ l/intranasalmente. (LPAI
A/ty/Italy/8000/2002/H7N3 LPAI A/ty/Italy/H5N2/1980). Hubo un
grupo de controles no vacunados. Se evalúan signos clínicos y
15 descamación (hisopos de traquea y cloaca recolectados en los
días 3, 5, 7, 10, 14, 20), y serológicos.

MÉTODOS- El aislamiento del virus se hace de acuerdo con la
directiva EU 92/40/EC. El ensayo de inhibición de
20 hemoaglutinación se hace de acuerdo con la directiva EU
92/40/EC. EL RT-PCR en tiempo real se hace de acuerdo con
Cattoli et al., (2004), Avian Pathology, 33(4), pp. 432-437.
El ensayo "DIVA" de detección de anticuerpo anti N se hace de
acuerdo con Capua et al., (2003) Avian Pathology 32 (1), 47-
25 55.

ENSAYOS ESTADÍSTICOS Y DEFINICIONES- Infección:
combinación de positivo virológico por RRT-PCR (traquea o
cloaca) ensayo de positivo para "DIVA" y seroconversión de
5 ADN. Seroconversión: incremento de al menos 4 logs (pre y
post-inoculación de título). La comparación de descamación
entre grupos vacunados y no vacunados: Exacto de Fisher P.
Comparación de pre y post inoculación de títulos: ensayo de
signos no paramétricos (pre-post dentro del mismo grupo) y
10 Wilcoxon (Mann-Whitney) dos muestras de ensayo (comparación
entre el incremento del título entre diferentes grupos, es
decir para establecer si existe una diferencia en incremento
en el título entre grupos vacunados y grupos no vacunados
luego de inoculación).

15

Resultados

INOCULACIÓN DE PAVOS CON H5N2 10⁴ EID/50

- 20 1. COMPARACIÓN ENTRE LOS INDICADORES DEL LOGRO DE INFECCIÓN
ENTRE AVES VACUNADAS VS NO VACUNADAS

EXACTO DE FISHER P = 0.0005 (< 0.01)

107
n†122

Significativo: existe una diferencia estadísticamente significativa entre el número de aves en el que se logra la infección en aves vacunadas vs no vacunadas

	Positivo	Negativo	Total
Vacunados	1	9	10
No vacunados	9	1	10

5

2. COMPARACIÓN ENTRE NIVELES DE DESCAMACIÓN (HISOPOS PARA TRAQUEA Y CLOACA) EN AVES VACUNADAS VS NO VACUNADAS

EXACTO DE FISHER P = 0.0005 (< 0.01)

10 Significativo: en aves vacunadas los niveles de descamación fueron significativamente más bajos que en las aves no vacunadas.

	Positivo	Negativo	Total
Vacunados	44	96	140
No vacunados	57	69	126

15 3. COMPARACIÓN ENTRE TÍTULO HI PRE Y POST INOCULACIÓN EN AVES VACUNADAS VS NO VACUNADAS

ENSAYO DE SIGNO NO PARAMÉTRICO:

20 NO VACUNADO: H5N2: P = 0.0039 (< 0.01); H5N9: P = 0.0039 (< 0.01)

108
no/23

VACUNADOS: H5N2: P = 0.1797 (> 0.05); H5N9: P = 0.0039 (< 0.01)

5 Significativo: en aves vacunadas la elevación en el título serológico al virus provocador no es significativo. En las aves no vacunadas por el contrario hubo una elevación significativa en el título.

	Pre-inoculación H5N2	Post-inoculación H5N2	Pre-inoculación H5N9	Post-inoculación H5N9
Vacunado	7.2*	9.6	6.0	6.9
No vacunado	0	8.5	0	6.2

* log 2

10

INOCULACIÓN DE PAVO CON H7N3 10⁴ EID/50

1. COMPARACIÓN ENTRE LOS INDICADORES DEL LOGRO DE LA INFECCIÓN ENTRE AVES VACUNADAS VS NO VACUNADAS.

15

EXACTO DE FISHER P = 0.0001 (< 0.01)

20 Significativo: Existe una diferencia estadísticamente significativa entre el logro de la infección en aves vacunadas vs no vacunadas.

	Positivo	Negativo	Total
Vacunados	1	9	10
No vacunados	9	1	10

2. COMPARACIÓN ENTRE NIVELES DE DESCAMACIÓN (HISOPO DE TRAQUEA Y CLOACA) EN AVES VACUNADAS VS NO VACUNADAS

5 EXACTO DE FISHER P = 0.0000 (<0.01)

Significativo: en niveles de descamación de aves vacunadas fue significativamente menor que aves no vacunadas

	Positivo	Negativo	Total
Vacunado	21	119	140
No vacunado	63	63	126

10 3. COMPARACIÓN ENTRE TÍTULO HI PRE Y POST INOCULACIÓN EN AVES VACUNADAS VS NO VACUNADAS

15 ENSAYO DE SIGNOS NO PARAMÉTRICOS:

NO VACUNADO: H7N1: P= 0.0039 (<0.01); H7N3: P= 0.0039 (<0.01)

VACUNADOS: H7N1: P= 0.0020 (<0.01); H7N3: P= 0.0215 (<0.05)

No significativo: en aves vacunadas hubo un aumento significativo en el título serológico para el virus provocador comparable con el observado en aves no vacunadas.

20

	Preinocula das H7N1	Post- inoculadas H7N1°	Preinocula das H7N3	Post- inoculadas H7N3
Vacunado	8.4*	10.6	5.3	7.1
No vacunado	0	9	0	6.8

* log 2

° La alta reactividad serológica con el virus H7N1 se atribuye a la cepa particular del virus. Con el fin de evaluar la significancia se debe considerar el título del virus
5 provocador.

Conclusiones - Pavos - Poulvac XXX en un programa de 3 inyecciones es capaz de reducir significativamente el número de aves infectadas, descamación y signos clínicos con una
10 inoculación 10⁴ EID/50 de una cepa H7N3 endémica para la población de pavos Italianos. También es capaz de reducir significativamente el número de aves infectadas y la descamación con inoculación de 10⁴ EID/50 de una cepa H5N2 seleccionada para imitar una introducción novedosa. La
15 vacunación profiláctica en pavos ha resultado en una susceptibilidad reducida del grupo para la infección experimental y en niveles de descamación significativamente menores.

El ensayo de eficacia Poulvac XXX para vacunación profiláctica en pollos.

Resumen de Resultados - El estudio se desarrolla en el
5 Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Padova,
Italia que es OIE y Laboratorio de Referencia Nacional para AI
y ND El ensayo se basa en trabajos previos pero se desarrolla
para probar la eficacia del Poulvac XXX como una herramienta
para la vacunación profiláctica contra: re-emergencia de un
10 virus altamente adaptado (A/Ty/Italy/8000/H7N3/2002). Hubo una
introducción de una cepa novedosa con un bajo grado de
adaptación al huésped doméstico (A/ty/Italy/H5N2/1980). El
ensayo se desarrolla en pollos y pavos con diferentes dosis
infecciosas.

15

ENSAYO EXPERIMENTAL - Se vacunan pollos con Poulvac XXX, 0.5
ml/im de 2 y 5 semanas de edad. Hay 4 grupos experimentales, 2
vacunados y 2 no vacunados inoculados 21 días después de la
segunda vacunación con 10^6 EID/50 en 100 ul/intranasalmente.
20 (LPAI A/ty/Italy/8000/2002/H7N3 LPAI A/ty/Italy/H5N2/1980).
Hay un grupo de controles no vacunados. Se evalúan signos
clínicos y descamación (hisopos de traquea y cloaca
recolectados en los días 3, 5, 7, 10, 14, 20), y serológicos.

MÉTODOS- El aislamiento del virus se hace de acuerdo con la directiva EU 92/40/EC. El ensayo de inhibición de hemoaglutinación se hace de acuerdo con la directiva EU 92/40/EC. EL RT-PCR en tiempo real se hace de acuerdo con Cattoli et al., (2004), Avian Pathology, 33(4), pp. 432-437. El ensayo "DIVA" de detección de anticuerpo anti N se hace de acuerdo con Capua et al., (2003) Avian Pathology 32 (1), 47-55.

10 Ensayos estadísticos y definiciones- Infección: combinación de positivo virológico por RRT-PCR (traquea o cloaca) ensayo de positivo para "DIVA" y seroconversión de ADN. Seroconversión: incremento de al menos 4 logs (pre y post-inoculación de título). La comparación de descamación
15 entre grupos vacunados y no vacunados: Exacto de Fisher P. Comparación de pre y post inoculación de títulos: ensayo de signos no paramétricos (pre-post dentro del mismo grupo) y Wilcoxon (Mann-Whitney) dos muestras de ensayo (comparación
entre el incremento del título entre diferentes grupos, es
20 decir para establecer si existe una diferencia en incremento en el título entre grupos vacunados y grupos no vacunados luego de inoculación).

RESULTADOS

INOCULACIÓN DE POLLOS CON H5N2 10⁶ EID/50

1. COMPARACIÓN ENTRE LOS INDICADORES DE LOGRO DE INFECCIÓN

ENTRE AVES VACUNADAS VS NO VACUNADAS

5

EXACTO DE FISHER P= 0.0433 (<0.05)

Significativo: no se alcanza infección en aves vacunadas

	Positivo	Negativo	Total
Vacunado	0	10	10
No vacunado	4	6	10

10 2. COMPARACIÓN ENTRE NIVELES DE DESCAMACIÓN (HISOPO PARA

TRAQUEA Y CLOACA) EN AVES VACUNADAS VS NO VACUNADAS

EXACTO DE FISHER P= 0.0008 (<0.01)

Significativo: en niveles de descamación de aves vacunadas

15 fue significativamente menor que aves no vacunadas - (porque

no se alcanza infección).

	Positivo	Negativo	Total
Vacunado	0	140	140
No vacunado	10	130	140

3. COMPARACIÓN ENTRE TÍTULO HI PRE Y POST INOCULACIÓN EN AVES

20

VACUNADAS VS NO VACUNADAS

114
n7p2g

ENSAYO DE SIGNOS NO PARAMÉTRICOS:

NO VACUNADO: H5N2: P = 0.0078 (<0.01); H5N9: P = 0.0078 (<0.01)

VACUNADOS: H5N2: P = 0.4531 (>0.05); H5N9: P = 0.6875 (>0.05)

5 Significativo: en aves vacunadas el aumento en el título serológico para el virus provocador no es significativo (porque no se alcanza infección) en las aves no vacunadas en cambio hubo un aumento significativo en el título.

	Pre-inoculación H5N2	Post-inoculación H5N2	Pre-inoculación H5N9	Post-inoculación H5N9
Vacunado	8.9*	9.6	7.7	8.5
No vacunado	0	4.1	0	4.1

10 * log 2

INOCULACIÓN DE POLLOS H7N3 10⁶ EID/50

1. COMPARACIÓN ENTRE LOS INDICADORES DEL LOGRO DE INFECCIÓN
ENTRE AVES VACUNADAS VS NO VACUNADAS

EXACTO DE FISHER P= 0.0015 (<0.01)

Significativo: no se alcanza infección en aves vacunadas

	Positivo	Negativo	Total
Vacunado	0	10	10

115
27.5

No vacunado	7	3	10
----------------	---	---	----

2. COMPARACIÓN ENTRE NIVELES DE DESCAMACIÓN (HISOPO PARA TRAQUEA Y CLOACA) EN AVES VACUNADAS VS NO VACUNADAS

5 EXACTO DE FISHER P= 0.0000 (<0.01)

Significativo: fueron significativamente menores los niveles de descamación de aves vacunadas que aves no vacunadas - (porque no se alcanza infección).

	Positivo	Negativo	Total
Vacunado	2	138	140
No vacunado	25	115	140

10

3. COMPARACIÓN ENTRE EL TÍTULO HI PRE Y POST INOCULACIÓN EN AVES VACUNADAS VS NO VACUNADAS

ENSAYO DE SIGNOS NO PARAMÉTRICOS:

15 NO VACUNADO: H7N1: P = 0.0020 (<0.01); H7N3: P = 0.0020 (<0.01)

VACUNADO: H7N1: P = 0.0020 (<0.01); H7N3: P = 1.0000 (>0.05)

Significativo: en aves vacunadas no hubo un aumento significativo en el título serológico para el virus provocador 20 (debido a que no se alcanza infección). En las aves no

vacunadas en cambio hubo un aumento significativo en el título.

	Pre- inoculació n H7N1	Post- inoculació n H7N1°	Pre- inoculació n H7N3	Post- inoculació n H7N3
Vacunado	8.4*	10.8	6.1	6.1
No vacunado	0	5	0	3.5

* log 2

5 ° La mayor reactividad serológica con el virus H7N1 se atribuye a la cepa particular del virus. Con el fin de evaluar la significancia se debe considerar el título del virus provocador.

10 Conclusiones - Pollos. Poulvac XXX en un programa de 2 inyecciones es capaz de Prevenir la infección con 10⁶ EID/50 de una cepa endémica H7N3 a la población de pavo Italiano. Este es también capaz de prevenir infección con 10⁶ EID/50 de una cepa H5N2 seleccionada para imitar una introducción novedosa.

15 La vacunación profiláctica en pollos ha prevenido el establecimiento de la infección activa en pollos.

Mientras que la invención se ha descrito en cada una de sus varias modalidades, se espera que ciertas modificaciones a esta se puedan tomar y efectur por la persona experta en la

20 técnica sin apartarse del verdadero espíritu y alcance de la

invención, como se establece en la descripción previa y como modalidad adicional en las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

5

LO QUE SE REIVINDICA ES:

1. Una composición de vacuna que es efectiva prevenir o aliviar la infección de Virus de Influenza Aviar, que
10 comprende al menos dos cepas inactivas de virus de influenza aviar, en donde la hemoaglutinina combinada total (HA) es al menos aproximadamente de 256 HA/dosis de dicha composición de vacuna, y en donde cada una de dichas cepas presenta al menos aproximadamente 128 HA/dosis, y
15 adicionalmente en donde una de dichas cepas tiene el mismo subtipo HA como aquel de un virus provocador, y en donde al menos una de dichas cepas tiene un subtipo NA diferente de dicho virus provocador.
- 20 2. La composición de vacuna de la reivindicación 1, comprende adicionalmente un portador farmacológicamente aceptable.
3. La composición de vacuna de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, comprende adicionalmente al menos un antígeno de
25 ave de corral adicional.

4. La composición de vacuna de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en donde dicho portador es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste de portadores acuosos y emulsiones.

5. La composición de vacuna de acuerdo con una cualquiera o más de las reivindicaciones 2, 3 o 4, en donde dicho portador es una emulsión agua en aceite.

6. La composición de vacuna de la reivindicación 5, en donde dicha emulsión comprende al menos dos tensoactivos.

7. La composición de vacuna de la reivindicación 6, en donde dichos tensoactivos se seleccionan del grupo que consiste de ésteres de oleato de Sorbitán y copolímeros de bloque de óxido de etileno/óxido de propileno.

8. La composición de vacuna de la reivindicación 7, en donde dicha emulsión comprende al menos dos ésteres de oleato de Sorbitán.

9. La composición de vacuna de la reivindicación 8, en donde dichos ésteres son TWEEN® 80 y éster de sesquioleato de Sorbitán.

10. La composición de vacuna de acuerdo con una cualquiera o más de las reivindicaciones 1 a 9, en donde dicho antígeno se selecciona del grupo que consiste de antígenos de virus que se inactivan en un baño de agua.
11. Un método para prevenir o aliviar un brote de infección de Virus de Influenza Aviar, que comprende administrar a un miembro de aves de corral una composición de vacuna que comprende al menos dos cepas inactivas de virus de influenza aviar, en donde la hemoaglutinina (HA) combinada total es al menos aproximadamente de 256 HA/dosis de dicha composición de vacuna, y en donde cada una de dichas cepas presenta al menos aproximadamente 128 HA/dosis, y adicionalmente en donde una de dichas cepas tiene el mismo subtipo HA como aquel de un virus provocador, y en donde al menos una de dichas cepas tiene un subtipo NA diferente de dicho virus provocador.
12. El método de la reivindicación 11, en donde dicha composición de vacuna se administra por vía de agua potable o pulverización.

02/20
15

13. El método de la reivindicación 11, en donde dicha dosis está entre el rango de aproximadamente 0.25 mL a 2.0 mL por miembro de ave de corral.

5 14. El método de la reivindicación 13, en donde dicha vacuna se administra en no más de una dosis.

15. Una composición de vacuna que es efectiva en prevenir o aliviar la infección de Virus de Influenza Aviar, que
10 comprende al menos dos cepas inactivas de virus de influenza aviar, en donde la hemoaglutinina (HA) combinada total es al menos aproximadamente de 300 HA/dosis de dicha composición de vacuna, y en donde cada una de dichas cepas presenta al menos aproximadamente 150 HA/dosis, y
15 adicionalmente en donde una de dichas cepas tiene el mismo subtipo HA como aquel de un virus provocador, y en donde al menos una de dichas cepas tiene un subtipo NA diferente de dicho virus provocador, y también en donde dicha composición contiene dos tensoactivos que consisten
20 esencialmente de ésteres de oleato de Sorbitán.

16. La composición de la reivindicación 15 en donde dichos tensoactivos son TWEEN® 80 y éster de sesquioleato de Sorbitán.

(21)
no. 16

17. La composición de acuerdo con la reivindicación 15 o 16, en donde cada una de dichas cepas presenta aproximadamente 192 HA/dosis.
- 5 18. La composición de acuerdo con una cualquiera o más de las reivindicaciones 15, 16 o 17 en donde dicha composición resulta en un título medio geométrico de grado de aproximadamente 33.9 a aproximadamente 22 días post-inoculación, con más de aproximadamente 49 de 60 miembros
10 de aves de corral que tienen un título HI de al menos aproximadamente 1:16.
19. La composición de acuerdo con una cualquiera o más de las reivindicaciones 15 a 18 en donde se identifican dichas
15 cepas como H5N9 y H7N1, respectivamente.
20. La composición de la reivindicación 1, en donde el total HA/dosis es al menos aproximadamente de 300.
- 20 21. La composición de la reivindicación 1, en donde el total HA/dosis está entre el rango de aproximadamente 256-300.

RESUMEN

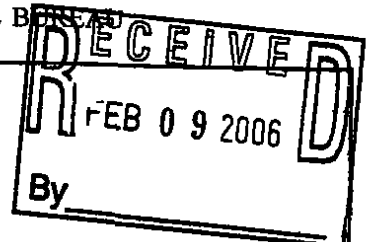
Una composición de vacuna y método que es efectivo en prevenir o aliviar la infección de Virus de Influenza Aviar se establece aquí. La vacuna contiene al menos dos cepas inactivas de virus de influenza aviar, en donde la hemoaglutinina (HA) combinada total es al menos aproximadamente de 256 HA/dosis de la composición de vacuna, y en donde cada una de las cepas presenta al menos aproximadamente 128 HA/dosis, y adicionalmente en donde una de las cepas tiene el mismo subtipo HA como aquel de un virus provocador, y en donde al menos una de las cepas tiene un subtipo NA diferente del virus provocador.

PCTNOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

LEVIS, John, F.
Wyeth
Patent Law Department
Five Giralda Farms
Madison, New Jersey 07940
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

By

Date of mailing (day/month/year) 23 January 2006 (23.01.2006)	
Applicant's or agent's file reference ~~XXXXXXXXXX~~	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/US2005/035925	International filing date (day/month/year) 06 October 2005 (06.10.2005)
International publication date (day/month/year)	Priority date (day/month/year) 07 October 2004 (07.10.2004)
Applicant WYETH et al	

- By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- (If applicable) An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority datePriority application No.Country or regional Office
or PCT receiving OfficeDate of receipt
of priority document07 October 2004 (07.10.2004)
31 January 2005 (31.01.2005)60/616,707
60/648,459US
US03 January 2006 (03.01.2006)
03 January 2006 (03.01.2006)

RECEIVED

FEB 14 2006

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

SHEILA McBRIDE
Marek LASKOWSKI (Fax 338-71-30)

Facsimile No. (41-22) 338.71.30

Telephone No. +41 22 338 8152

Facsimile No. +41 22 338 82 70

Form PCT/IB/304 (January 2004)

CP6KD5FJ

PATENT COOPERATION TREA. .

07129
124

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

WYETH
Attn. Levis, John, F.
5 Giralda Farms
Madison NJ 07940
UNITED STATES OF AMERICANOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Date of mailing
(day/month/year)

12/06/2006

Applicant's or agent's file reference

WIPO/ISA/2005/035925

By

FOR FURTHER ACTION

See paragraphs 1 and 4 below

International application No.

WIPO/ISA/2005/035925

International filing date
(day/month/year)

06/10/2005

Applicant

WYETH

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are 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) 338.82.70

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ 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 and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.
3. ☐ 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.

4. Reminders

Shortly after the expiration of 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 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

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 International Searching Authority

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

René De Hoogd

RECEIVED

JUN 28 2006

SHEILA McBRIDE

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

07/40
125

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the *PCT Applicant's Guide*, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report and the written opinion of the International Searching Authority, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Annexes B1 and B2).

The attention of the applicant is drawn to the fact that amendments to the claims under Article 19 are not allowed where the International Searching Authority has declared, under Article 17(2), that no international search report would be established (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, paragraph 296).

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How?

Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

126
001/1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference AM101861	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, Item 5 below.	
International application No. PCT/US2005/035925	International filing date (day/month/year) 06/10/2005	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 07/10/2004
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 5 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
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box No. III)

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 No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the drawings,

- a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

II INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2005/035925

127
no 1/2

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/145 A61K39/295 A61K39/39

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)

C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X 5	FATUNMBI O O ET AL: "EFFICACY OF AVRIDINE AND LIPOSOMES AS ADJUVANTS FOR AVIAN INFLUENZA VIRUS ANTIGENS IN TURKEYS" AVIAN PATHOLOGY, vol. 21, no. 2, 1992, pages 225-237, XP008064567 ISSN: 0307-9457	1-8, 10-15, 17,18,20
Y	page 226, paragraph 2 page 227, paragraph 4 tables 1,4	9,16
Y ✓	EP 0 399 843 A (CHIRON CORPORATION) 28 November 1990 (1990-11-28) page 6, lines 12-22 -/-	9,16

☒ 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 document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts 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

"P" 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

23 May 2006

Date of mailing of the international search report

12/06/2006

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Brouns, G

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y 5	CAPUA ILARIA ET AL: "Avian influenza: recent developments" AVIAN PATHOLOGY, vol. 33, no. 4, August 2004 (2004-08), pages 393-404, XP002381890 ISSN: 0307-9457 page 394, right-hand column, paragraphs 2,3	1,2,11, 13,15
Y ✓	LU XIUHUA ET AL: "A mouse model for the evaluation of pathogenesis and immunity to influenza A (H5N1) viruses isolated from humans" JOURNAL OF VIROLOGY, THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US, vol. 73, no. 7, July 1999 (1999-07), pages 5903-5911, XP002162397 ISSN: 0022-538X table 3	1,2,11, 13,15
Y ✓	WO 03/086453 A (CAPUA, ILARIA; MARANGON, STEFANO; CATTOLI, GIOVANNI) 23 October 2003 (2003-10-23) cited in the application page 21, line 11 - page 27, line 4	1,2,11, 13,15
A 5	GARCIA ALEJANDRO ET AL: "Efficacy of inactivated H5N2 influenza vaccines against lethal A/Chicken/Queretaro/19/95 infection" AVIAN DISEASES, vol. 42, no. 2, April 1998 (1998-04), pages 248-256, XP008064568 ISSN: 0005-2086	4-8
A 5	SWAYNE D E ET AL: "INFLUENCE OF VIRUS STRAIN AND ANTIGEN MASS ON EFFICACY OF H5 AVIAN INFLUENZA INACTIVATED VACCINES" AVIAN PATHOLOGY, HUNTINGDON, CAMBS, GB, vol. 28, no. 3, June 1999 (1999-06), pages 245-255, XP009047820 ISSN: 0307-9457	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2005/035925

129

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 11-14 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

international application No

PCT/US2005/035925

00145
130

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0399843	A	28-11-1990	AT 108327 T	15-07-1994
			CA 2017507 A1	25-11-1990
			DD 294633 A5	10-10-1991
			DE 69010574 D1	18-08-1994
			DE 69010574 T2	27-10-1994
			DE 399843 T1	02-05-1991
			DK 399843 T5	19-09-1994
			ES 2033626 T1	01-04-1993
			GR 91300063 T1	15-11-1991
			HK 107695 A	14-07-1995
			HU 61203 A2	28-12-1992
			IE 64766 B1	06-09-1995
			JP 8032638 B	29-03-1996
			JP 5508385 T	25-11-1993
			PT 94168 A	08-01-1991
			WO 9014837 A1	13-12-1990
WO 03086453	A	23-10-2003	AU 2002253542 A1	27-10-2003
			CA 2482244 A1	23-10-2003
			EP 1494708 A1	12-01-2005
			JP 2005538343 T	15-12-2005

PATENT COOPERATION TREATY

nd 148
131

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/US2005/035925

International filing date (day/month/year)
06.10.2005

Priority date (day/month/year)
07.10.2004

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. A61K39/145 A61K39/295 A61K39/39

Applicant
WYETH

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1 b/s(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office - P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas
Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl
Fax: +31 70 340 - 3016

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Brouns, G

Telephone No. +31 70 340-3789



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2005/035925

132
01147

Box No. 1 Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
4. Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2005/035925

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of

☐ the entire international application

☒ claims Nos. 11-14

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 11-14 relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

see separate sheet

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos.

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b).

☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

☐ See Supplemental Box for further details

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2005/035925

no 01/49 134

Box No. V Reasoned statement under Rule 43b/s.1(a)(i) with regard to novelty, Inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	9,12,14,16,17,19
	No: Claims	1-8,10,11,13,15,18,20
Inventive step (IS)	Yes: Claims	19
	No: Claims	1-18, 20
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-10,15-20
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

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

see separate sheet

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2005/035925

The present application relates to a vaccine composition comprising two different strains of inactivated avian influenza virus (AIV), H5N9 and H7N1. It has been demonstrated that said vaccine protects immunised birds against challenge with AIV having the same subtype of haemagglutinin (HA), but a different subtype of neuraminidase (NA).

Re Item III

Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

Claims 11-14 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of these claims (Article 34(4)(a)(I) PCT).

Re Item V

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

Reference is made to the following documents:

- D1: FATUNMBI O O ET AL: "Efficacy of avridine and liposomes as adjuvants for avian influenza virus antigens in turkeys" AVIAN PATHOLOGY, vol. 21, no. 2, 1992, pages 225-237
- D2 CAPUA ILARIA ET AL: "Avian influenza: recent developments" AVIAN PATHOLOGY, vol. 33, no. 4, August 2004 (2004-08), pages 393-404
- D3 EP-A-0 399 843 (CHIRON CORPORATION) 28 November 1990 (1990-11-28)

NOVELTY (Article 33(2) PCT)

D1 discloses a vaccine composition effective in preventing or ameliorating AIV infection, which comprises 4096 HA units per vaccine dose of three inactivated strains of AIV, H4N8, H5N2, H7N3, sorbitan mono-oleate and polysorbate 80 (Tween 80) (D1, p. 226, para. 2; p.227, para 4).

The 'challenge virus' may not be considered a technical feature of the vaccine

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2005/035925

composition, since the selection of the challenge virus depends on the scientist testing the vaccine composition, or the challenge may result from a field infection with any naturally occurring AIV strain. Table 1 of D2 shows AIV strains that have caused outbreaks in recent years, and the H5N9 and H7N1 AIV strains used to generate the vaccine of the present application have both been implicated in recent outbreaks. The 'vaccine strain' may thus not be distinguished from any 'challenge virus' and the vaccine composition of D1 is considered suitable of inducing an immune response against AIV strains with the same HA subtype but a different NA subtype than the strains used in said composition, for instance H5N1.

The subject-matter of **claims 1-8, 10, 11, 13, 15, 18 and 20** does not fulfil the requirements of Article 33(2) PCT with respect to novelty.

The subject-matter of **claims 9, 12, 14, 16, 17 and 19** is not disclosed in the prior art, therefore said claims appear novel (Article 123(2) EPC).

INVENTIVE STEP (Article 33(3) PCT)

Dependent **claims 9, 12, 14, 16 and 17** do not contain any features which, in combination with the features of any claim to which they refer, meet the requirements of the PCT in respect of inventive step, the reasons being as follows:

Equivalents of sorbitan mono-oleate known from the vaccine composition of D1 are listed in D3 (p.6, l. 12-22), and the application does not demonstrated in a comparative example that the selection of sorbitan sesquioleate has any effect (claims 9 and 16).

It has not been shown that the vaccine composition of the present application administered via drinking water or by spraying, or administered in a single dose, induces a protective immune response (claims 12, 14).

No effect has been indicated for a vaccine composition comprising about 192 HA units per dose per strain of AIV (claim 17).

No incentive has been given in the prior art to generate a vaccine composition comprising inactivated H5N9 and H7N1 containing two surfactants consisting essentially of sorbitan oleate esters. It has been demonstrated that said vaccine composition induces a protective immune response.

Hence the subject-matter of **claim 19** appears to comprise an inventive step (Article 33(3)

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2005/035925

PCT.

INDUSTRIAL APPLICABILITY (Article 33(4) PCT)

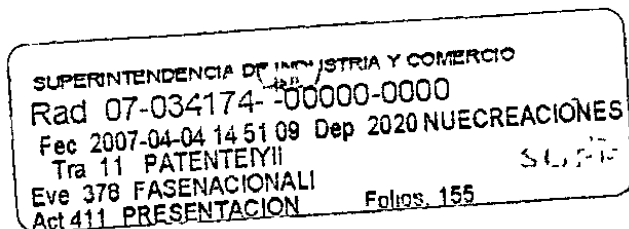
For the assessment of the present **claims 11-14** on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Re Item VIII**Certain observations on the international application**

Claims 9 and 16 relate to 'TWEEN®80', which refers to the commercial origin of said compound rather than the property of the compound (PCT Guidelines, 5.39). The applicant is requested to remove said expression and replace it with polyoxyethylene 20 sorbitan mono-oleate, as defined on page 10 of the description.

Claim 10, relating to 'an antigen,' refers back to claim 1 relating to strains of AIV virus. Furthermore, the antigen is characterised as 'virus antigen which is inactivated in a water bath'. Said term does not clearly define the subject-matter for which protection is sought. Claim 10 does not fulfil the requirements of Article 6 PCT since said claim is not clear.

Retiro folio 153, 154 y 155



REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION



MODELO DE UTILIDAD ☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- ◆ Descripción de la invención ☒
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes ☒
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒

COMPLETA ☐

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 ☐

Claudia Nery
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

139

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCI

Folio 157

2020
Bogotá D.C.,

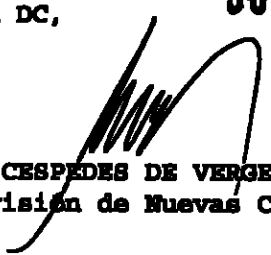
Doctor(a)
CORREA ORDOÑEZ ALVARO
Apoderado(a) y/o Representante de
WYETH

REFERENCIA	Radicación No.	7 34174
	Solicitud internacional	pct/us2005/035925
	Fecha inicio fase nacional	07/05/2007
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	416
	Oficio No.	3427
	Folios	1

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 Única 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,

30 JUL 2007


ALIX CARMEN CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

adpall