



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Organización CSA Ltda

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

SOLICITUD

PCT

PATENTE DE INVENCION

08-8736

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO “ESTABILIZADORES PARA VACUNAS
VETERINARIAS”

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE WYETH

DOMICILIO NUEVA JERSEY, ESTADOS UNIDOS

74. APODERADO ALVARO CORREA ORDÓÑEZ.
T.P. 20.281

22. BOGOTÁ, D. C., ENERO 30, 2008



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-008736- -00000-0000

Fecha: 2008-01-30 12:51:58 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 73

ción

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

04 Mayo 2008

SOLICITUD DE :

①

☒

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

②

SOLICITANTE
(71)

Nombre: WYETH

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

Nacionalidad o Domicilio: Nueva Jersey, Estados Unidos de América

Lugar de Constitución: Delaware, Estados Unidos de América

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.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

79.143.366 de
Usaquén

TP 20.281

④

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: KUMAR, Mahesh; RODENBERG, Jeff H.; HANSEN, Jason M. y CHU, Andrew D.

Dirección: 2910 22nd Avenue North, Fort Dodge, IA 50501, Estados Unidos Unidos de América; 2741 North 7th Street, Fort Dodge, IA 50501, Estados Unidos de América; 1202 South 197th Avenue, Omaha, NE 68130, Estados Unidos de América y 1955 Louise Ridge, Fort Dodge, IA 50501, Estados Unidos de América, respectivamente

Nacionalidad o Domicilio: Estadounidenses

⑤ PCT (85)

Solicitud Internacional No. PCT/US2006/029849

Fecha 31-JUL-06

Publicación Internacional No. WO/2007/019128

Fecha 17-FEB-07

⑥ Título (54)

ESTABILIZADORES PARA VACUNAS VETERINARIAS

⑦

Clasificación Internacional (51)

A61K 47/18, A61K 47/42

⑧

Prioridad

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

SI

☒

NO

☐

US

04-AGO-05

60/705,508

⑨

Comprobante de pago No. 08-4656

Fecha 18-ene-08

10

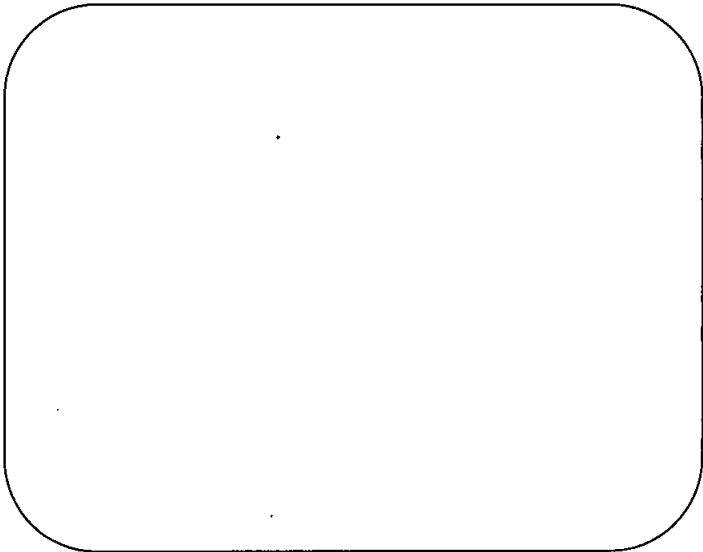
ANEXOS

2

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredita 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 de búsqueda y opinión escrita y notificación de presentación de documento de prioridad.

11

FIGURA CARATERISTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALVARO CORREA ORDONEZ

FIRMA:

C.C. 79.143.366 de Usaquén

T.P. 20.281

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

3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 900176089-2

2008/002

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 4.656
FECHA : ENERO 18 DE 2008

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-008736- -00000-0000

Fecha: 2008-01-30 12:51:58 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 73

***** CONSIGNACION *****

OSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
BAKER & MCKENZIE	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	2930863	18/01/2008	45,361,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN 501,000.00
			TOTAL : \$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE :

LIBRO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
15 February 2007 (15.02.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/019128 A1

(51) International Patent Classification:

A61K 47/18 (2006.01) A61K 47/42 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2006/029849

(22) International Filing Date: 31 July 2006 (31.07.2006)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

60/705,508 4 August 2005 (04.08.2005) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **WYETH**
[US/US]; Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **KUMAR, Mahesh**
[US/US]; 2910 22nd Avenue North, Fort Dodge, IA 50501
(US). **RODENBERG, Jeff, H.** [US/US]; 2741 North 7th
Street, Fort Dodge, IA 50501 (US). **HANSEN, Jason, M.**
[US/US]; 1202 South 197th Avenue, Omaha, NE 68130
(US). **CHU, Andrew, D.** [US/US]; 1955 Louise Ridge,
Fort Dodge, IA 50501 (US).(74) Agent: **RENDA, Barbara, L.**; Wyeth, Patent Law Depart-
ment, Five Giralda Farms, Madison, NJ 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, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP,
KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, 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, RS, RU, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, 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:

- 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

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: STABILIZERS FOR VETERINARY VACCINES

(57) Abstract: A formulation for a animal vaccines is provided. The vaccine formulation contains a stabilizer component and a viral immunogen. The stabilizer component includes a substantially TSE/BSE-safe animal-based protein and a vegetable-based protein. The stabilizer component provides for the stabilization of a vaccine throughout its storage and administration.

WO 2007/019128 A1

STABILIZERS FOR VETERINARY VACCINES

FIELD OF THE INVENTION

The present invention relates to vaccine stabilizers, and more particularly to protein-based stabilizers for live and live-attenuated virus vaccines that are substantially safe from bovine spongiform encephalopathy (BSE) and transmissible spongiform encephalopathy (TSE). The present invention also relates to veterinary vaccine formulations containing stabilizers from vegetable sources, and animal sources which are substantially free of BSE and TSE.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Attenuated and live viral organisms used in vaccines are sensitive to changes in their environment and degrade when exposed to suboptimal conditions. Thus, vaccine stabilizers are used as agents added to liquid, frozen, or lyophilized vaccines to maintain vaccine potency and efficacy. Often, these stabilizers are incorporated with the vaccine during preparation, and stabilize the vaccine throughout the manufacturing, storage and administration thereof. Stabilizers impart greater shelf life to the vaccine until the vaccine is readied for administration. While vaccine stabilizers have been effective at extending a vaccine's potency throughout the manufacturing and storage process, new health concerns must be considered when choosing the type of stabilizer and its source.

Numerous methods are known for the production of live and attenuated viral vaccine preparations containing stabilizers. Traditional vaccine virus stabilizers are often comprised of animal proteins, along with sugars to stabilize the virus. Ruminant-derived proteins such as milk proteins, Pharmatone® and Peptone® stabilizers are commonly used in the stabilization process. Pharmatone® (American

Labs, Inc., Omaha, NE) is obtained by heat hydrolysis and peptic digestion of beef tissues. Bacto Peptone® (Difco Laboratories, Inc., Tucker, GA) is an enzymatic digest of animal proteins.

In addition, U.S. Pat. App. No. 2003/0215455 (Nov. 20, 2003) (B. Reynolds et al.) discloses a vaccine stabilizer that comprises a reducing agent, a buffer, a thermal stabilizer, a sugar and water. This reference also teaches to utilize a coloring agent to serve as a visual reference to an animal caretaker for positively identifying the presence of the vaccine in its own integral water supply for dissemination to an animal herd.

U.S. Pat. No. 5,733,555 (Mar. 31, 1998) (H.J. Chu) discloses a formulation comprising a modified virus combined with a stabilizer, carrier, or diluent. In addition, the formulation further comprises an adjuvant that is present in a final concentration of about 1-25% (v/v), and preferably 5% (v/v).

U.S. Pat. No. 6,258,362 (Jul. 10, 2001) (P.T. Loudon et al.) relates to a dried pharmaceutical composition dispersible in an aqueous liquid or an injection, containing a virus, a polysaccharide or a source of mixed amino acids, a buffer and a mono- or oligo-saccharide or derivatives thereof. However, the source of the amino acid is necessarily of vegetable or bacterial origin. Substantially TSE/BSE-safe protein or amino acid tissue sources such as cow's milk are not disclosed. Compositions include examples free from animal protein and its hydrosylate or other materials of animal origin.

As a direct result of TSE and related threats (i.e. BSE) in ruminant sources, alternative protein sources are presently being sought for use as vaccine stabilizers. It is generally believed that the highest amounts of infectivity of TSE/BSE are found in the brain and spinal cord of ruminant animals in the final stages of clinical disease.

Scientists have found that different ruminant tissues contain different amounts of the BSE agent. Some tissues, such as skeletal muscle and milk, have never been shown to have much, if any, infectivity. However, other proteins and gelatins that may similarly be used as stabilizers in vaccines are sourced from other tissues, including
5 cow bones. Because the slaughtering and butchering methods used to obtain tissues and prepare materials can affect the amount of infectivity that may be present, it appears that only proteins and sugars sourced from cow's milk could present little or no risk of TSE/BSE. In addition, non-ruminants such as plants and vegetables potentially present one of the only TSE/BSE risk-free sources of stabilizer
10 proteins.

Thus, the drawbacks associated with the known animal vaccine stabilizers are twofold. The first is the use of animal-based proteins from sources that pose a potential TSE/BSE threat. The second is the use of BSE/TSE-safe vegetable-based proteins alone in vaccines that fail to include beneficial animal-based proteins of a
15 substantially BSE/TSE-safe source.

In light of these observations, there is a need in the art to develop a vaccine stabilizer comprising proteins of substantially TSE/BSE-safe sources that include both vegetables and animals. There is also a need to develop a vaccine formulation for veterinary use which contains a stabilizer component derived from both vegetable
20 sources, as well as from animal based sources that are substantially free to BSE or TSE.

SUMMARY OF THE INVENTION

In accordance with the present invention, there is provided an animal vaccine formulation consisting essentially of a viral immunogen, and a stabilizer component
25 containing an animal-based protein of a substantially BSE/TSE-safe source and a

vegetable-based protein. Further, in accordance with the present invention, a substantially TSE/BSE-safe protein source would preferably be ruminant milk. Vegetable-based proteins may be sourced from a suitable vegetable or plant species as hereinafter described.

5 In another aspect, the present invention provides an animal vaccine that includes a stabilizer component as set forth above, and further includes a buffer and sugar. Although phosphates, carboxylates and bicarbonates are preferred, other suitable buffering agents may be used. The sugar source typically includes saccharides, but other moisture retainers such as carbohydrates and sugar alcohols
10 may also be included.

In yet another aspect, the present invention provides a method for the preparation of an animal vaccine formulation. The preparation includes the formation of a stabilizer component that includes a vegetable-based protein in a diluent. An animal-based protein of a substantially TSE/BSE-safe source is added as part of the
15 stabilizer component. Additionally, a buffer and a sugar may be added. The stabilizer component can also be sterilized, if desired. Subsequent to the sterilization of the stabilizer component, a vaccine formulation is achieved by the addition of a viral immunogen to the stabilizer component. Lyophilization of the vaccine formulation yields a stabilized vaccine suitable for extended storage periods.

20 As a further part of the invention, there is also provided a vaccine stabilizer formulation consisting essentially of a vegetable protein stabilizer and an animal protein stabilizer of a substantially TSE/BSE-safe source.

Further, objects and features of the invention will become apparent from the detailed description and the claims set forth herein below.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

There is a need for an animal vaccine formulation containing a viral immunogen, together with a stabilizer containing an animal-based protein of a substantially BSE/TSE-safe source and a vegetable-based protein. The present invention is directed toward further solutions to address this need.

As used herein, "viral immunogen" will typically denote a live or attenuated virus, or portion thereof. An attenuated virus is a virus that has been altered, typically by passaging in tissue culture cells, to attenuate its ability to cause disease, but which maintains its ability to protect against disease or infection when administered to animals. Examples include, but are not limited to, live and live-attenuated immunogens from such animals as cows, horses, pigs, sheep, fowl, including chickens, turkeys and pigeons, dogs, cats, and other veterinary species, in particular mammals. Illustrative immunogens include, but are not limited to, Bordetella bronchiseptica, canine adenovirus type 2 (CAV-2), canine distemper, canine parainfluenza virus, canine parvovirus (CPv), feline calicivirus (FCV), feline rhinotracheitis, feline panleukopenia, porcine pseudorabies virus (PRV), equine arteritis (EAV), bovine rhinotracheitis virus, bovine parainfluenza virus (PI3), bovine respiratory syncytial virus (BRSV), bovine viral disease Type I and Type II (BVD Type I and Type II). Illustrative fowl immunogens include, but are not limited to, avian infectious bronchitis virus (IBV), Newcastle disease virus (NDV), Infectious Bursal Disease Virus (IBDV), Infectious Laryngotracheitis virus (ILT), Avian encephalomyelitis virus (AE), Avian poxvirus, or Avian Reovirus. The use of the formulations of the present invention for fowl immunogens is particularly advantageous in that such immunogens are typically supplied to the end user as

lyophilized product, so that stabilizers are necessary to ensure full potency upon reconstitution prior to administration of the vaccine to the target animal.

The live or live attenuated immunogen pool may be neat or in solution, depending on the concentration of the immunogen stock. If the titer is high, it may
5 need to be diluted to achieve the target concentration.

The viral immunogen is included as part of the vaccine formulation as set forth herein. Typically, the viral immunogen may be added as part of a stock solution for the immunogen of interest. The loading of the viral immunogen may vary, but will often be within the range of about 0.001 to 50% (w/v), preferably within the range of
10 about 0.01 to 10%. The skilled artisan can optimize the amount of immunogen based on the particular attributes of the final vaccine formulation desired. For example, a more potent or stronger vaccine immunogen may require less concentration in the final vaccine formulation, for example. The quantity of vaccine immunogen set forth above in the vaccine formulation is not inclusive of any diluent
15 (such as water), or other suspending means or vehicle (such as oil).

A further component of the vaccine formulation of the invention is a stabilizer component. "Stabilizer component" denotes a combination of an animal-based protein of a substantially BSE/TSE-safe source and a vegetable-based protein, which stabilizes the vaccine formulation throughout its storage and administration. The
20 stabilizer component may comprise about 0.01 – 30% (w/v) of the animal vaccine formulation, more preferably about 0.05 – 15% (w/v), and even more preferably about 1 – 10% (w/v).

As part of the stabilizer component, there is an animal based protein of a substantially BSE/TSE-safe source. An "animal-based protein of a substantially
25 BSE/TSE-safe source" refers to proteins that are sourced from ruminant milk, and

other sources, for example the muscle meat, of an animal, particularly a mammal, that are likely to be free of contamination from BSE and TSE. Suitable animal-based proteins include, but are not limited to, digested protein extracts such as N-Z-Amine®, N-Z-Amine AS® and N-Z-Amine YT® (Sheffield Products Co., Norwich, N.Y.), which are casein enzymatic hydrosylates of bovine milk. N-Z-Amine YT® is the preferred animal-based protein for use in the present invention.

The animal-based protein may comprise about 0.001 – 15% (w/v) of the stabilizer component, more preferably about 0.01 – 10% (w/v) thereof. The animal-based protein will further comprise about 0.0001 – 3% (w/v), more preferably about 0.001 – 2% (w/v) of the vaccine formulation.

A further part of the stabilizer component is the vegetable-based protein. Vegetable-based proteins may include, without limitation, soy protein, wheat protein, corn gluten, rice protein and hemp protein, among others. Preferred vegetable based proteins in the present invention are soy proteins and corn gluten. Corn gluten is a mixture of various corn-derived proteins. The soy proteins can include 100% soy protein (available as VegeFuel® by Twinlab), textured soy protein, and soybean enzymatic digest. Textured soy protein is a soy protein that is made from defatted soy flour that is compressed and processed into granules or chunks. Soybean enzymatic digest describes soybean peptones that result from the partial hydrolysis of soybean proteins.

The vegetable-based protein may comprise about 0.001 – 30% (w/v) of the stabilizer component, more preferably about 0.01 – 10% (w/v) thereof. The vegetable-based protein will further comprise about 0.0001 – 6% (w/v), more preferably about 0.001 – 4% (w/v) of the final vaccine formulation. The ratio of

vegetable-based protein to animal-based protein may preferably range from about 1:1 to about 3:1, and more preferably will be in the range of about 2:1.

A diluent, preferably water, will typically comprise the remainder of the stabilizer component, up to 100%.

5 The vaccine formulation of the invention may additionally include a biologically acceptable sugar for moisture retention during the lyophilization process, hereinafter described. The sugar is selected from the group including, but not limited to, the mono-, di-, tri- and oligosaccharides, such as glucose, dextrose, lactose, sucrose, mannose and fructose, and the like. Sucrose is the preferred sugar in the
10 formulation of the present invention. The sugar may comprise about 0.001 – 6% (w/v) of the final vaccine formulation, more preferably about 0.001 – 4% (w/v). If desired, the sugar component may be included as part of the stabilizer component during preparation thereof. The skilled artisan may recognize that an approximate 1:1 ratio of sugar component to vegetable-based protein in the final formulation may be
15 desirable.

 The vaccine formulation may additionally include a biologically acceptable buffer to maintain a pH close to neutral (7.0 – 7.3). Such buffers preferably used are typically phosphates, carboxylates, and bicarbonates. More preferred buffering agents are sodium phosphate, potassium phosphate, sodium citrate, calcium lactate,
20 sodium succinate, sodium glutamate, sodium bicarbonate, and potassium bicarbonate. Monosodium glutamate is the most preferred buffer as part of the present invention. The buffer may comprise about 0.0001 – 5% (w/v) of the vaccine formulation, more preferably about 0.001 – 1% (w/v). The buffer(s) may be added as part of the stabilizer component during the preparation thereof, if desired.

Other excipients, if desired, may be included as part of the final vaccine formulation.

The remainder of the vaccine formulation is an acceptable diluent, to 100%, including water. The vaccine formulation may also be formulated as part of a water-in-oil, or oil-in-water emulsion. The skilled artisan will further recognize that the heretofore described components comprising the vaccine formulation are an integral part thereof, and are not readily parseable therefrom.

Also provided as part of the invention is a method of preparation of the vaccine formulation herein described. Preparation of the vaccine formulation preferably takes place in two phases. The first phase typically involves the preparation of the stabilizer component. A vegetable-based protein stock solution is prepared by dissolving the vegetable-based protein in a diluent. The preferred diluent is water, preferably distilled and/or purified so as to remove trace impurities (such as that sold as purified Super Q®). In a separate vessel an animal-based protein of a substantially BSE/TSE-safe source is dissolved in a diluent, additionally with the sugar component and buffer additives. N-Z-Amine YT® a high quality source of peptides produced by enzymatic hydrolysis of casein, is a preferred animal-based protein, while water is the preferred diluent. Preferably, an equal volume of the vegetable-based protein stock solution is added to the animal-based protein solution. It is desirable that after HCl / KOH adjustment to achieve a pH of approximately 7.2 ± 0.1 , the stabilizer component is sterilized via autoclave. The stabilizer solution may be refrigerated for extended period prior to introduction of the immunogen.

The second phase of preparation of the vaccine formulation includes introduction of the live or live attenuated immunogen with the stabilizer component,

14

thereby yielding the vaccine formulation. Preferably, the immunogen is diluted with a buffer solution prior to its introduction to the stabilizer component.

Once this vaccine formulation solution has been achieved, the formulation is separated into vials or other suitable containers.

5 The vaccine formulation herein described may then be packaged in individual or multi-dose ampoules, or be subsequently lyophilized (freeze-dried) before packaging in individual or multi-dose ampoules. The vaccine formulation herein contemplated also includes the lyophilized version. The lyophilized vaccine formulation may be stored for extended periods of time without loss of viability at
10 ambient temperatures.

The lyophilized vaccine may be reconstituted by the end user, and administered to an animal, typically in one or two doses, in the range of about 1 – 5mL of vaccine formulation/dose. Smaller animals such as fowl may receive a preferred dosage of about 0.01 – 1mL, more preferably about 0.03 – 0.5mL.

15 The following example illustrates preferred aspects of the invention, but should not be construed as limiting the scope thereof:

EXAMPLE 1

STEP 1: VEGETABLE-BASED PROTEIN STOCK SOLUTION PREPARATION

5.0g of corn gluten was mixed with 50mL of purified water. The mixture was
20 then ground in a blender. The mixture was decanted and the supernatant collected. The solution was stored at 4°C.

STEP 2: PREPARATION OF THE STABILIZER COMPONENT

N-Z-Amine Type YT® (2.5g), Sucrose (5.0g) (Sigma, St. Louis, Mo.) and Monosodium Glutamate (0.5g) (Sigma, St. Louis, Mo.) were added to 50mL of water

15

(purified Super Q®) and dissolved. Heat was added to increase the dissolution rate. This solution was added to the 50.0mL, 10% Corn Gluten solution of Step 1. The pH was adjusted to 7.2 ± 0.1 with KOH and/or HCl. The solution was then dispensed into suitable containers and autoclaved at $>121^{\circ}\text{C}$ or >30 minutes. (This solution may be
5 stored at $2-7^{\circ}\text{C}$ for approximately 1 month.)

STEP 3: PREPARATION AND LYOPHILIZATION OF THE VACCINE FORMULATION

Preparation of the Virus Pool: A frozen avian infectious bronchitis virus (IBV), Newcastle disease virus (NDV), Infectious Bursal Disease Virus (IBDV), Infectious
10 Laryngotracheitis virus (ILT), Avian encephalomyelitis virus (AE), Avian poxvirus, or Avian Reovirus preparation was or is thawed at 37°C . 50mL of the thawed virus was or is added to a sterile bottle, diluted with 400ml of PBS (phosphate buffered saline), and the viral titer recorded ($\text{EID}_{50}/\text{mL}$).

Preparation of the Vaccine Formulation: 15mL of the stabilizer component
15 (see Step 2 above) was or is added to a sterile bottle and diluted with 85mL of the diluted viral immunogen of Step 3a. This vaccine formulation was or mixed for 5-10 minutes, and the theoretical immunogen titer recorded ($\text{EID}_{50}/\text{mL}$).

Aliquoting Immunogen/Stabilizer Pools: The vaccine formulation of Step 3 b was or is dispensed in 5mL aliquots to lyophilization bottles with sterile cornwalls and
20 sterile blunt needles. Sterile stoppers were or are added to each vial and the vials added to the lyophilizer. After lyophilization, the vials were backfilled with 10-15% nitrogen, stoppered, crimp sealed, and stored at 4°C .

EXAMPLE 2

STEP 1: VEGETABLE-BASED PROTEIN STOCK SOLUTION PREPARATION

5.0g of soy protein (VegeFuel® by Twinlab) was mixed with 50mL of purified water. The mixture was then ground in a blender. The mixture was decanted and the supernatant collected. The solution was stored at 4°C.

STEP 2: PREPARATION OF THE STABILIZER COMPONENT

N-Z-Amine Type YT® (2.5g) (Sheffield Products Co., Norwich, N.Y.), Sucrose (5.0g) (Sigma, St. Louis, Mo.) and Monosodium Glutamate (0.5g) (Sigma St. Louis, Mo.) were added to 50mL of water (purified Super Q®) and dissolved. Heat was added to increase the dissolution rate. This solution was added to the 50.0mL, 10% soy protein (VegeFuel® by Twinlab) of Step 1. The pH was adjusted to 7.2 ± 0.1 with KOH and/or HCl. The solution was then dispensed into suitable containers and autoclaved at $>121^{\circ}\text{C}$ or >30 minutes. (This solution may be stored at $2-7^{\circ}\text{C}$ for approximately 1 month.)

STEP 3: PREPARATION AND LYOPHILIZATION OF THE VACCINE FORMULATION

Preparation of the Virus Pool: A frozen avian infectious bronchitis virus (IBV), Newcastle disease virus (NDV), Infectious Bursal Disease Virus (IBDV), Infectious Laryngotracheitis virus (ILT), Avian encephalomyelitis virus (AE), Avian poxvirus, or Avian Reovirus preparation was or is thawed at 37°C . 50mL of the thawed virus was or is added to a sterile bottle, diluted with 400ml of PBS (phosphate buffered saline), and the viral titer recorded ($\text{EID}_{50}/\text{mL}$).

Preparation of the Vaccine Formulation: 15mL of the stabilizer component (see Example 2 above) was or is added to a sterile bottle and diluted with 85mL of

the diluted viral immunogen of Step 3a. This vaccine formulation was or is mixed for 5-10 minutes, and the theoretical immunogen titer recorded (EID₅₀/mL).

Aliquoting Immunogen/Stabilizer Pools: The vaccine formulation of Step 3b was or is dispensed in 5mL aliquots to lyophilization bottles with sterile cornwalls and sterile blunt needles. Sterile stoppers were or are added to each vial and the vials added to the lyophilizer. After lyophilization, the vials were or are backfilled with 10-15% nitrogen, stoppered, crimp sealed and stored at 4°C.

EXAMPLE 3

STEP 1: VEGETABLE-BASED PROTEIN STOCK SOLUTION PREPARATION

5.0g of textured soy protein was mixed with 50mL of purified water. The mixture was then ground in a blender. The mixture was decanted and the supernatant collected. The solution was stored at 4°C.

STEP 2: PREPARATION OF THE STABILIZER COMPONENT

N-Z-Amine Type YT® (2.5g) (Sheffield Products Co., Norwich, N.Y.), Sucrose (5.0g) (Sigma, St. Louis, Mo.) and Monosodium Glutamate (0.5g) (Sigma St. Louis, Mo.) were added to 50mL of water (purified Super Q®) and dissolved. Heat was added to increase the dissolution rate. This solution was added to the 50.0mL, 10% textured soy protein of Step 1. The pH was adjusted to 7.2 ± 0.1 with KOH and/or HCl. The solution was then dispensed into suitable containers and autoclaved at >121°C or >30 minutes. (This solution may be stored at 2-7°C for approximately 1 month.)

STEP 3: PREPARATION AND LYOPHILIZATION OF THE VACCINE FORMULATION

Preparation of the Virus Pool: A frozen avian infectious bronchitis virus (IBV), Newcastle disease virus (NDV), Infectious Bursal Disease Virus (IBDV), Infectious Laryngotracheitis virus (ILT), Avian encephalomyelitis virus (AE), Avian poxvirus, or Avian Reovirus preparation was or is thawed at 37°C. 50mL of the thawed virus was or is added to a sterile bottle, diluted with 400ml of PBS (phosphate buffered saline), and the viral titer recorded (EID₅₀/mL).

Preparation of the Vaccine Formulation: 15mL of the stabilizer component prepared as detailed in Step 2 above, was or is added to a sterile bottle and diluted with 85mL of the diluted viral immunogen of Step 3a. This vaccine formulation was or is mixed for 5-10 minutes, and the theoretical immunogen titer recorded (EID₅₀/mL).

Aliquoting Immunogen/Stabilizer Pools: The vaccine formulation of Step 3b was or is dispensed in 5mL aliquots to lyophilization bottles with sterile cornwalls and sterile blunt needles. Sterile stoppers were or are added to each vial and the vials added to the lyophilizer. After lyophilization, the vials were or are backfilled with 10-15% nitrogen, stoppered, crimp sealed and stored at 4°C.

EXAMPLE 4

STEP 1: VEGETABLE-BASED PROTEIN STOCK SOLUTION PREPARATION

5.0g of soybean enzymatic digest was mixed with 50mL of purified water. The mixture was then ground in a blender, decanted and the supernatant collected. The solution was stored at 4°C.

19

STEP 2: PREPARATION OF THE STABILIZER COMPONENT

N-Z-Amine Type YT® (2.5g) (Sheffield Products Co., Norwich, N.Y.), Sucrose (5.0g) (Sigma, St. Louis, Mo.) and Monosodium Glutamate (0.5g) (Sigma St. Louis, Mo.) were or are added to 50mL of water (purified Super Q®) and dissolved. Heat was or is added to increase the dissolution rate. This solution was or is added to the 50.0mL, 10% soybean enzymatic digest solution of Step 1. The pH was adjusted to 7.2 ± 0.1 with KOH and/or HCl. The solution was or is then dispensed into suitable containers and autoclaved at $>121^{\circ}\text{C}$ or >30 minutes. (This solution may be stored at $2-7^{\circ}\text{C}$ for approximately 1 month.)

10 STEP 3: PREPARATION AND LYOPHILIZATION OF THE VACCINE FORMULATION

Preparation of the Virus Pool: A frozen avian infectious bronchitis virus (IBV), Newcastle disease virus (NDV), Infectious Bursal Disease Virus (IBDV), Infectious Laryngotracheitis virus (ILT), Avian encephalomyelitis virus (AE), Avian poxvirus, or 15 Avian Reovirus preparation was or is thawed at 37°C . 50mL of the thawed virus was or is added to a sterile bottle, diluted with 400ml of PBS (phosphate buffered saline), and the viral titer recorded ($\text{EID}_{50}/\text{mL}$).

Preparation of the Vaccine Formulation: 15mL of the stabilizer component prepared as detailed in Step 2 above, was added to a sterile bottle and diluted with 20 85mL of the diluted viral immunogen of Step 3a. This vaccine formulation was or is mixed for 5-10 minutes, and the theoretical immunogen titer recorded ($\text{EID}_{50}/\text{mL}$).

Aliquoting Immunogen/Stabilizer Pools: The vaccine formulation of Step 3b was dispensed in 5mL aliquots to lyophilization bottles with sterile cornwalls and sterile blunt needles. Sterile stoppers were added to each vial and the vials were

added to the lyophilizer. After lyophilization, the vials were backfilled with 10-15% nitrogen and then stoppered. The vials were then crimp sealed and stored at 4°C.

EXAMPLE 5

COMPARISON TESTING WITH ANIMAL-BASED STABILIZER

5 Vaccine strain IBV harvest fluids were formulated at equivalent titer into stabilizers as described above in Examples 1-4, and compared to virus stabilized in animal protein in the manner of Poulvac® IB (Massachusetts, M-41 – VS Code 1231.11) commercially available from by Fort Dodge Animal Health Division of Wyeth. Samples were obtained after the virus was mixed with stabilizer, and again
10 after lyophilization cycling, were titrated in triplicate, and the pre- and post-lyophilization geometric mean titers were compared to determine loss during freeze drying.

Results are as follows:

Sample	Geometric Mean Titer Pre-Lyo (log/mL)	Geometric Mean Titer Post-Lyo (log/mL)	Titer Loss (log/mL)
IBV + Example 1 Stabilizer	6.20	5.54	0.66
IBV + Example 2 Stabilizer	5.40	4.66	0.74
IBV + Example 3 Stabilizer	5.80	4.61	1.19
IBV + Example 4 Stabilizer	5.80	4.78	1.02
IBV + Animal Protein Stabilizer	5.70	3.65	2.05

15

The use of the vegetable origin stabilizers of Examples 1-4 in the Table above resulted in lower titer loss during the lyophilization cycle than did use of the animal protein stabilizer (line 5 in the table above).

Numerous modifications and alternative embodiments of the present
5 invention will be apparent to those skilled in the art in view of the foregoing description. Accordingly, this description is to be construed as illustrative only and is

for the purpose of teaching those skilled in the art the best mode for carrying out the present invention. Details of the structure may vary substantially without departing from the spirit of the present invention, and exclusive use of all
10 modifications that come within the scope of the appended claims is reserved. It is intended that the present invention be limited only to the extent required by the appended claims and the applicable rules of law.

WHAT IS CLAIMED IS:

1. An animal vaccine formulation consisting essentially of:
a live viral immunogen; and
5 a stabilizer component containing an animal-based protein of a substantially BSE/TSE-safe source and a vegetable-based protein.
2. The animal vaccine formulation of claim 1, wherein said live viral immunogen is attenuated.
3. The stabilizer component of claim 1, wherein said vegetable-based
10 protein is selected from a group comprising corn gluten, soy protein, rice protein, wheat protein, and hemp protein.
4. The stabilizer component of claim 1, wherein said animal-based protein of a substantially BSE/TSE-safe source is N-Z-Amine®.
5. The animal vaccine formulation of claim 1, further containing:
15 a diluent.
6. The animal vaccine formulation of claim 5, wherein said diluent is purified water.
7. The animal vaccine formulation of claim 1, further containing:
a sugar.
- 20 8. The animal vaccine formulation of claim 7, wherein said sugar is selected from the group consisting of mono-, di-, tri- and oligosaccharides, such as glucose, dextrose, lactose, sucrose, mannose and fructose.
9. The animal vaccine of claim 8, wherein said sugar is sucrose.
10. The animal vaccine formulation of claim 1, further containing:
25 a buffer.
11. The animal vaccine formulation of claim 10, wherein said buffer is selected from a group including sodium phosphate, potassium phosphate, sodium citrate, calcium lactate, sodium succinate, sodium glutamate, sodium bicarbonate, and potassium bicarbonate.
- 30 12. The animal vaccine formulation of claim 11, wherein said buffer is monosodium glutamate.
13. An animal vaccine formulation consisting essentially of:
a live viral immunogen;

a stabilizer component containing an animal-based protein of a substantially BSE/TSE-safe source, and a vegetable-based protein;
a diluent;
a sugar; and
5 a buffer.

14. The animal vaccine formulation of claim 13, wherein said live viral immunogen is attenuated.

15. The animal vaccine formulation of claim 13 wherein said diluent is purified water.

10 16. The animal vaccine formulation of claim 13, wherein said sugar is selected from a group including mono-, di-, tri- and oligosaccharides, such as glucose, dextrose, lactose, sucrose, mannose and fructose.

17. The animal vaccine formulation of claim 16, wherein said sugar is sucrose.

15 18. The animal vaccine formulation of claim 13, wherein said buffer is selected from the group consisting of sodium phosphate, potassium phosphate, sodium citrate, calcium lactate, sodium succinate, sodium glutamate, sodium bicarbonate, and potassium bicarbonate.

19. The animal vaccine formulation of claim 18, wherein said buffer is
20 monosodium glutamate.

20. The stabilizer component of claim 13, wherein said animal protein of a substantially BSE/TSE-safe source is N-Z-Amine Type YT®.

21. The stabilizer component of claim 13, wherein said vegetable-based protein is selected from a group comprising corn gluten, soy protein, rice protein,
25 wheat protein, and hemp protein.

22. An animal vaccine formulation consisting essentially of:
a live viral immunogen;
a stabilizer component containing an animal protein of a substantially BSE/TSE-safe source and a vegetable-based protein, wherein said
30 animal protein of a substantially BSE/TSE-safe source is N-Z-Amine Type YT® and said vegetable-based protein is selected from a group comprising corn gluten, soy protein, rice protein, wheat protein, and hemp protein;

24

a diluent, wherein said diluent is purified water;

a sugar, wherein said sugar is selected from a group consisting of mono-, di-, tri- and oligosaccharides, such as glucose, dextrose, lactose, sucrose, mannose and fructose; and

5 a buffer, wherein said buffer is selected from the group consisting of sodium phosphate, potassium phosphate, sodium citrate, calcium lactate, sodium succinate, sodium glutamate, sodium bicarbonate, and potassium bicarbonate.

23. The animal vaccine formulation of claim 22, wherein said sugar is
10 sucrose.

24. The animal vaccine formulation of claim 22, wherein said buffer is monosodium glutamate.

25. The animal vaccine formulation of claim 22, wherein said live viral immunogen is attenuated.

15 26. A method of preparing an animal vaccine formulation, comprising:
forming a stabilizer component consisting essentially of an animal-based protein of a substantially BSE/TSE-safe source and vegetable-based protein; and
adding said stabilizer component to an immunogen component to
20 furnish a vaccine formulation.

27. The method set forth in claim 26, wherein said vegetable-based protein comprises about 0.0001 – 6% (w/v), more preferably about 0.001 – 4% (w/v) of said vaccine formulation.

28. The method set forth in claim 26, wherein said animal-based protein
25 comprises about 0.0001 – 3% (w/v), more preferably about 0.001 – 2% (w/v) of said vaccine formulation.

29. The method set forth in claim 26, wherein said vaccine formulation is lyophilized after said adding of said immunogen component.

30 30. The method set forth in claim 26, wherein the preparation of said stabilizer component of said vaccine formulation comprises:

dissolving said vegetable-based protein in purified water to form a first solution;

adding said animal-based protein of a substantially BSE/TSE-safe source, said buffer, and said sugar to said first solution;
adjusting the pH of said stabilizer solution;
filtering said stabilizer component; and
sterilizing said stabilizer component.

31. The method set forth in claim 30, wherein said animal-based protein of a substantially BSE/TSE-safe source is N-Z-Amine Type YT®, said buffer is monosodium glutamate, and said sugar is sucrose.

32. The method set forth in claim 30, wherein said vegetable-based protein is selected from the group consisting of corn gluten, soy protein, rice protein, wheat protein, and hemp protein.

33. The method set forth in claim 30, wherein said vegetable-based protein of said stabilizer component comprises about 0.001 – 30% (w/v) of the stabilizer component, more preferably about 0.01 – 10% (w/v).

34. The method set forth in claim 30, wherein said animal-based protein of said stabilizer component comprises about 0.001 – 15% (w/v) of the stabilizer component, more preferably about 0.01 – 10% (w/v) thereof.

35. The method set forth in claim 30, wherein said sugar comprises about 0.001 – 6% (w/v) of the final vaccine formulation, more preferably about 0.001 – 4% (w/v).

36. The method set forth in claim 30, wherein said buffer comprises 0.0001 – 5% (w/v) of the vaccine formulation, more preferably about 0.001 – 1% (w/v).

37. The method set forth in claim 30, wherein said dissolving further comprises:

heating said first solution.

38. The method set forth in claim 30, wherein said sterilizing comprises autoclaving said solution.

39. A vaccine stabilizer consisting essentially of:
animal-based protein of a substantially BSE/TSE-safe source; and
a vegetable-based protein.

40. The vaccine stabilizer component of claim 39, wherein the ratio of said vegetable-based protein to said animal-based protein is within the range of from about 1:1 to about 3:1.

ESTABILIZADORES PARA VACUNAS VETERINARIAS**CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se relaciona con estabilizadores para vacunas, y más particularmente a estabilizadores con base en proteína para vacunas de virus vivos o virus atenuados que son sustancialmente seguros para la encefalopatía espongiforme bovina (BSE). La presente invención y la encefalopatía espongiforme transmisible (TSE). La presente invención también se relaciona con formulaciones de vacunas veterinarias que contienen estabilizadores de fuentes vegetales, y fuentes animales que son sustancialmente libres de BSE y TSE.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Los organismo virales atenuados y vivos usados en las vacunas son sensibles a cambios en su ambiente y se degradan cuando se exponen a condiciones subóptimas. Así, los estabilizadores de vacunas son usados como agentes agregados a vacunas líquidas, congeladas o liofilizadas para mantener la potencia y la eficacia de la vacuna. Frecuentemente, estos estabilizadores son incorporados con la vacuna durante la preparación, y estabilizan la vacuna durante el tiempo de fabricación, almacenamiento y administración de la misma. Los estabilizadores imparten una vida de almacenamiento mayor a las vacunas hasta que la vacuna está lista para su administración. Aunque los estabilizadores para vacunas han sido efectivos al extender una potencia de la vacuna durante los procesos de

fabricación y almacenamiento; nuevas preocupaciones de salud deben ser consideradas cuando se escoge el tipo de estabilizador y su fuente.

Numerosos métodos son conocidos para la preparación de preparaciones de vacunas virales vivas o virales atenuadas que contienen estabilizadores. Los estabilizadores de los virus de las vacunas tradicionales frecuentemente están compuestos de proteínas animales junto con azúcares para estabilizar el virus. Las proteínas derivadas de Rumiantes tales como las proteínas de leche, los estabilizadores Pharmatone® y Peptone® son usados comúnmente en el proceso de estabilización. Pharmatone® (American Labs, Inc., Omaha, NE) es obtenido por la hidrólisis caliente y la digestión óptica de tejidos de carne. Bacto Peptone® (Difco Laboratories, Inc., Tucker, GA) es un dirigido enzimático de proteínas animales.

Adicionalmente la solicitud de Patente Estadounidense No. 2003/0215455 (Nov. 20, 2003) (B. Reynolds et al.) describe un estabilizador de vacuna que comprende un agente reductor, un amortiguador, un estabilizador térmico, un azúcar y agua. Esta referencia también enseña a utilizar un agente colorante que sirve como referencia visual a una persona que cuida los animales para identificar positivamente la presencia de la vacuna en su propio suministro de agua integral para la diseminación a una manada de animales.

La Patente estadounidense No. 5,733,555 (Marzo 31, 1998) (H.J. Chu) describe una formulación que comprende un virus

modificado combinado con un estabilizador, un vehículo, o diluyente. Adicionalmente, la formulación comprende adicionalmente un adyuvante que esta presente en una concentración final de cerca de 1 - 25% (v/v), y preferiblemente 5% (v/v).

La Patente Estadounidense No. 6,258,362 (Jul. 10, 2001) (P.T. Loudon et al.) se relaciona con una composición farmacéutica seca dispersable en un liquido acuoso o una inyección que contiene un virus, un polisacárido o una fuente de aminoácidos mezclados, un amortiguador y un mono- o oligo-sacárido o derivados de ellos. Sin embargo, la fuente del aminoácido es necesariamente de origen vegetal o bacteriana. Sustancialmente la proteína segura de TSE/BSE o de las fuentes de tejido de aminoácido tales como la leche de vaca no están descritas. Las composiciones incluyen ejemplos libres de proteína animal y sus hidrosilatos u otros animales de origen animal.

Como un resultado directo del TSE y las amenazas relacionadas (es decir, BSE) en fuentes de rumiantes, fuentes alternativas de proteína actualmente se están buscando para uso como estabilizadores de vacuna. Se cree generalmente que las cantidades más altas de infección de TSE/BSE se encuentran en el cerebro y la espina dorsal de los animales rumiantes en las etapas finales de la enfermedad clínica. Los científicos han encontrado que diferentes tejidos de rumiantes contienen diferentes cantidades del agente BSE. Algunos tejidos, tales como el músculo esquelético y la leche nunca han mostrado tener mucho, o alguna, infección. Sin embargo, otras proteínas y gelatinas que

pueden similarmente ser usadas como estabilizadores en las vacunas han sido obtenidas de otros tejidos, incluyendo los huesos de vaca. Debido a los métodos que se usa en el sacrificio de los animales usados para obtener los tejidos y preparar los materiales puede afectar la cantidad de infección que puede estar presente, parece que solamente proteínas y azúcares obtenidas de la leche de la vaca podrían presentar poco o ningún riesgo de TSE/BSE. Adicionalmente, los animales no rumiantes tales como plantas y vegetales potencialmente presentan una entre las fuentes libres de riesgo de TSE/BSE para proteínas estabilizadoras.

Así, los inconvenientes asociados con los estabilizadores para vacunas de animales conocidos son dobles. El primero es el uso de proteínas de base animal como fuentes que colocan una amenaza potencial de TSE/BSE. El segundo es el uso de proteínas de base vegetal seguras para el TSE/BSE solas en vacunas que fallan en incluir las proteínas de base animal benéficas de una fuente sustancialmente segura de BSE/TSE.

A la luz de estas observaciones, existe la necesidad en la técnica de desarrollar un estabilizador de vacuna que comprenda proteínas de fuentes sustancialmente seguras en cuanto a TSE/BSE que incluyan tanto vegetales como animales. Existe también una necesidad e desarrollar una formulación de vacuna para uso veterinario que contenga un componente estabilizador derivado tanto de fuentes vegetales, como de fuentes de base animal que sean sustancialmente libres de BSE o de TSE.

RESUMEN DE LA INVENCION

De acuerdo con la presente invención se ha provisto una formulación de vacuna animal que consiste esencialmente de un inmunógeno viral, y un componente estabilizador que contiene una proteína de base animal y una fuente sustancialmente segura contra el BSE/TSE y una proteína de base vegetal. Adicionalmente, de acuerdo con la presente invención, una fuente de proteína sustancialmente segura de TSE/BSE preferiblemente seria de la leche de rumiantes. Las proteínas de base vegetal pueden ser obtenidas de especies vegetales o de plantas como se describe de aquí en adelante.

En otro aspecto, la presente invención suministra una vacuna para animales que incluye un componente estabilizador como se estableció anteriormente, y adicionalmente incluye un amortiguador y un azúcar. Aunque los fosfatos, carboxilatos y bicarbonatos son los preferidos, otros agentes de amortiguación adecuados pueden ser usados. La fuente de azúcar típicamente incluye sacáridos, pero otros retenedores de humedad tales como carbohidratos y alcoholes de azúcar pueden ser incluidos.

En todavía otro aspecto, la presente invención suministra un método para la preparación de una formulación de vacuna para animal. La preparación incluye la formación de un componente estabilizador que incluye una proteína de base vegetal en un diluyente. Una proteína de base animal de una fuente sustancialmente libre de TSE/BSE es agregada como parte del componente estabilizador. Adicionalmente, un amortiguador y un

azúcar pueden ser agregados. El componente estabilizador también puede ser esterilizado, si se desea. Subsecuente a la esterilización del componente estabilizador, una formulación de vacuna es lograda por medio de la adición de un inmunógeno viral al componente estabilizador. La liofilización de la formulación de la vacuna produce una vacuna estabilizada adecuada para períodos de almacenamiento extendidos.

Como parte adicional de la invención, también se ha suministrado una formulación de un estabilizador para vacuna que consiste esencialmente de un estabilizador de proteína vegetal y un estabilizador de proteína animal de una fuente sustancialmente libre o segura en cuanto a TSE/BSE.

Objetivos y rasgos adicionales de la invención serán evidentes a partir de la descripción detallada y las reivindicaciones establecidas aquí.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Existe una necesidad de una formulación de vacuna para animales que contenga un inmunógeno viral, junto con un estabilizador que contenga una proteína de base animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto a BSE/TSE y una proteína de base vegetal. La presente invención esta dirigida a soluciones adicionales para llenar esta necesidad.

Como se usa aquí, "Inmunógeno viral" típicamente denotará un virus vivo o atenuado, o una porción del mismo. Un virus atenuado

es un virus que ha sido alterado, típicamente por medio de pasarlo por unas células de cultivos de tejidos, para atenuar su habilidad para causar la enfermedad, pero que mantenga su habilidad para proteger contra la enfermedad o infección cuando es administrado a los animales. Ejemplos incluyen, pero sin limitarse a, inmunógenos vivos o vivos atenuados de tales animales como vacas, caballos, marranos, ovejas, aves, incluyendo pollos, pavos y palomas, perros, gatos y otras especies veterinarias, en particular mamíferos. Los inmunógenos ilustrativos incluyen, pero no se limitan a Bordetella bronquiséptica, adenovirus canino tipo 2 (CAV-2), moquillo canino, virus de parainfluenza canina, parvovirus canino (CPv), calicivirus felino (FCV), rinitis felina, panleukopenia felina, virus pseudorabies porcino (PRV), arteritis equina (EAV), virus rinotraqueitis bovino, virus de parainfluenza bovina (PI3), virus sincitial respiratorio (BRSV), enfermedad viral bovina Tipo I y Tipo II (BVD Tipo I y Tipo II). Inmunógenos de aves ilustrativos, incluyen pero no se limitan a, virus de bronquitis infecciosa aviar (IBV), virus de la enfermedad de Newcastle (NDV), virus de enfermedad Bursal Infecciosa (IBDV), virus de Laringotraqueitis Infecciosa (ILT), virus de encefalomiелitis aviar (AE), poxvirus aviar, o reovirus aviar. El uso de formulaciones de la presente invención para inmunógenos de aves es particularmente ventajoso en que tales inmunógenos son suministrados típicamente al usuario final como productos liofilizados, de modo que son necesarios los estabilizadores para asegurar la potencia completa luego de la reconstitución antes de la administración de la vacuna al animal objetivo.

Para agrupación de inmunógenos vivos o vivos atenuados, puede ser nítido o en una solución, dependiendo de la concentración del material de partida del inmunógeno. Si el título es alto, este puede requerir ser diluido para lograr la concentración objetivo. El inmunógeno viral es incluido como parte de la formulación de la vacuna según se establece aquí. Típicamente, el inmunógeno viral puede ser agregado como parte de una solución de partida para el inmunógeno de interés. La carga del inmunógeno viral puede variar, pero frecuentemente estará dentro del rango de aproximadamente 0.001 - 50% (p/v), preferiblemente dentro del rango de cerca de 0.1 - 10%. El artesano versado puede optimizar la cantidad de inmunógeno con base en los atributos particulares de la formulación de vacuna final deseada. Por ejemplo, un inmunógeno de vacuna más potente o fuerte puede requerir menos concentración en la formulación de vacuna final, por ejemplo. La cantidad de inmunógeno de vacuna establecido anteriormente en la formulación de vacunas no incluye cualquier diluyente (tal como agua) u otros medios de suspensión o vehículo (tales como aceite).

Un componente adicional de la formulación de vacuna de la invención es un componente estabilizador. "Componente estabilizador" denota una combinación de una proteína de base de animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto al BSE/TSE y una proteína de base vegetal, que estabiliza la formulación de la vacuna durante su almacenamiento y administración. El componente estabilizador puede comprender cerca de 0.01 - 30% (p/v) de la formulación de vacuna para animales, más

preferiblemente cerca de 0.05 - 15% (p/v), y aún más preferiblemente cerca de 1 - 10% (p/v).

Como parte del componente estabilizador, existe una proteína de base animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto a contener BSE/TSE. Una "proteína de base animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto a BSE/TSE" se refiere a proteínas que son obtenidas de leche de rumiantes y otras fuentes, por ejemplo carne del músculo de un animal, particularmente un mamífero, que muy posiblemente este libre de contaminación con BSE y TSE. Las proteínas de base animal adecuadas incluyen, pero se limitan a, extractos de proteína digeridos tales como N-Z Amine®, N-Z-Amine AS® y N-Z-Amine YT® (Sheffield Products Co., Norwich, N.Y.), que son hidrosilatos enzimáticos de caseína de leche bovina. El N-Z-Amine YT® es la proteína de base animal preferida para el uso en la presente invención.

La proteína de base animal puede comprender cerca de 0.001 a 15% (p/v) del componente estabilizador, más preferiblemente cerca de 0.01 - 10% (p/v) del mismo. La proteína de base animal comprenderá adicionalmente cerca de 0.0001 - 3% (p/v), más preferiblemente cerca de 0.001 - 2% (p/v) de la formulación de la vacuna.

Una parte adicional del componente estabilizador es la proteína de base vegetal. Las proteínas de base vegetal pueden incluir, sin limitación, proteína de soya, proteína de trigo, gluten de maíz, proteína de arroz y proteína de cáñamo, entre

otras. Las proteínas de base vegetal preferidas en la presente invención son las proteínas de soya y el gluten de maíz. El gluten de maíz es una mezcla de varias proteínas derivadas del maíz. Las proteínas de soya pueden incluir 100% proteína de soya (disponible como VegeFuel® por Twinlab), proteína de soya texturizada, y digerido enzimático de grano de soya, la proteína de soya texturizada es una proteína de soya que esta hecha de proteína de soya sin grasa que es comprimida y procesada para obtener gránulos o trozos. El digerido enzimático de grano de soya describe peptonas de grano de soya que resultan de la hidrólisis parcial de las proteínas de soya.

La proteína de base vegetal puede comprender de cerca de 0.001 - 30% (p/v) del componente estabilizador, más preferiblemente cerca de 0.01 - 10% (p/v) del mismo. La proteína de base vegetal comprenderá adicionalmente cerca de 0.0001 - 6% (p/v), más preferiblemente cerca de 0.001 - 4% (p/v) de la formulación de vacuna final. La proporción de proteína de base vegetal a proteína de base animal preferiblemente esta en el rango entre cerca de 1:1 a cerca de 3:1, y más preferiblemente estará en el rango entre cerca de 2:1.

Un diluyente, preferiblemente agua comprenderá típicamente el resto del componente estabilizador, hasta llegar al 100%.

La formulación de vacuna de la invención puede incluir adicionalmente un azúcar biológicamente aceptable para la retención de humedad durante el proceso de liofilización, descrito de aquí en adelante. El azúcar es seleccionado del grupo

que incluye, pero no se limita a, los mono-, di-, tri-, y oligosacáridos, tales como glucosa, dextrosa, lactosa, sacarosa, manosa y fructosa, y similares. La sacarosa es el azúcar preferido en la formulación de la presente invención. El azúcar puede comprender cerca de 0.001 - 6% (p/v) de la formulación de la vacuna final, más preferiblemente cerca de 0.001 - 4% (p/v). Si se desea, el componente de azúcar puede estar incluido como parte del componente estabilizador durante la preparación del mismo. El artesano versado en la técnica puede reconocer que una proporción aproximada de 1:1 de componente de azúcar a proteína de base vegetal en la formulación final puede ser deseable.

La formulación de la vacuna puede adicionalmente incluir un amortiguador biológicamente aceptable para mantener un pH cercano a neutro (7.0 - 7.3). Tales amortiguadores preferiblemente usados son típicamente los fosfatos, los carboxilatos, y los bicarbonatos. Más preferiblemente los agentes de amortiguación son el fosfato de sodio, fosfatote potasio, citrato de sodio, lactato de calcio, succinato de sodio, glutamato de sodio, bicarbonato de sodio y bicarbonato de potasio. El glutamato de Monosodio es el amortiguador más preferido como parte de la presente invención. El amortiguador puede comprender entre cerca de 0.0001 - 5% (p/v) de la formulación de la vacuna, más preferiblemente cerca de 0.001 - 1% (p/v). El amortiguador o amortiguadores pueden ser agregados como parte del componente estabilizador durante la preparación del mismo, si se desea.

Otros excipientes, si es deseado, pueden ser incluidos como parte de la formulación de vacuna final.

El resto de la formulación de la vacuna es un diluyente aceptable, hasta el 100%, incluyendo agua. La formulación de la vacuna puede también ser formulada como parte de una emulsión de agua en aceite, o aceite en agua. El artesano versado podrá reconocer que los componentes descritos aquí que comprenden la formulación de la vacuna son una parte integral de la misma, y no pueden ser separados de ella fácilmente.

También se ha provisto como parte de la invención un método de preparación de la formulación de la vacuna aquí descrita. La preparación de la formulación de la vacuna preferiblemente tiene lugar en dos fases. La primera fase típicamente involucra la preparación del componente estabilizador. Una solución de partida de proteína con base vegetal es preparada por medio de disolver la proteína de base vegetal en un diluyente. El diluyente preferido es agua, preferiblemente destilada y/o purificada con el objeto de remover toda traza de impurezas (tal como aquella vendida como Súper purificada Q®). En una vasija separada una proteína de base animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto a infección de BSE/TSE es disuelta en un diluyente, adicionalmente con el componente de azúcar y los aditivos amortiguadores. N-Z Amina YT® una fuente de alta calidad de péptidos producida por hidrólisis enzimática de la caseína, es una de las proteínas de base animal preferidas, mientras que el agua es el diluyente preferido. Preferiblemente, un volumen igual de la solución de partida de proteína de base vegetal se agrega a la solución de proteína de base animal. Es deseable que después del ajuste por HCl/KOH para lograr un pH de aproximadamente $7.2 \pm$

0.1, el componente estabilizador es esterilizado por medio de una autoclave. La solución estabilizadora puede ser refrigerada durante un periodo extendido antes de la introducción del Inmunógeno.

La segunda fase de preparación de la formulación de la vacuna incluye la introducción del inmunógeno vivo o vivo atenuado con el componente estabilizador, produciéndose así la formulación de la vacuna. Preferiblemente, el inmunógeno es diluido con una solución amortiguadora antes de su introducción al componente estabilizador.

Una vez esta solución de formulación de vacuna ha sido lograda, la formulación es separada en frascos u otros contenedores adecuados.

La formulación de la vacuna descrita aquí puede entonces ser empacada en ampollas individuales o de multidosis, o puede ser liofilizada subsecuentemente (secada por congelamiento) antes de ser empacada en ampollas individuales o de multidosis. La formulación de la vacuna contemplada aquí también incluye la versión liofilizada la formulación de vacuna liofilizada puede ser almacenada durante periodos de tiempo sin pérdida de la viabilidad a temperaturas ambientes.

La vacuna liofilizada puede ser reconstituida por el usuario final y administrada a un animal, típicamente en una o dos dosis, en el rango de cerca de 1 - 5mL de formulación de vacuna/dosis. Animales más pequeños tales como aves pueden recibir una

dosificación preferida de cerca de 0.01 - 1mL, más preferiblemente cerca de 0.03 - 0.5mL.

El siguiente ejemplo ilustra los aspectos preferidos de la invención, pero no debe ser constituido como limitativo del alcance de la misma:

EJEMPLO 1

ETAPA 1: PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE PARTIDA DE PROTEÍNA DE BASE VEGETAL

5.0g de gluten de maíz fue mezclado con 50mL de agua purificada. La mezcla fue entonces molida en un mezclador. La mezcla fue decantada y el sobrenadante recolectado. La solución fue almacenada a 4°C.

ETAPA 2: PREPARACIÓN DEL COMPONENTE ESTABILIZADOR

N-Z Amina Tipo YT® (2.5g), Sacarosa (5.0g) (Sigma, St. Louis, Mo.) y Glutamato de Monosodio (0.5g) (Sigma, St. Louis, Mo.) fueron agregados a 50mL de agua (Súper Q® purificada) y disuelta. Se agregó calor para incrementar la velocidad de disolución. Esta solución fue agregada a 50.0mL, 10% de solución de Gluten de Maíz de la etapa 1. El pH fue ajustado a 7.2 ± 0.1 con KOH y/o HCl. La solución fue entonces dispensada en contenedores adecuados y calentada en autoclave a una temperatura $>121^{\circ}\text{C}$ o > 30 minutos. (Esta solución puede ser almacenada entre $2-7^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 1 mes.)

ETAPA 3: PREPARACIÓN Y LIOFILIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN DE LA VACUNA

La preparación del grupo de Virus: un virus de bronquitis infecciosa aviar congelado (IBV), Virus de la enfermedad de Newcastle (NDV), Virus de la enfermedad Bursal Infecciosa (IBDV), Virus de Laringotraqueitis infecciosa (ILT), Virus de Encefalomiелitis aviar (AE), Virus pox aviar, o el reovirus aviar en preparación fueron o son precalentados a 37°C. 50mL del virus calentado o deshelado fue o es agregado a una botella estéril a 400ml de PBS (salina amortiguada con fosfato), y el titulo viral fue registrado (EID_{50}/mL).

Preparación de la formulación de la vacuna: 15mL del componente estabilizador (ver etapa 2 anterior) fue o es agregado a una botella estéril y diluido con 85mL del inmunógeno viral diluido de la etapa 3a. Esta formulación de la vacuna fue o es mezclada durante 5 - 10 minutos, y el titulo de inmunógeno teórico registrado (EID_{50}/mL).

Alícuotas de los agrupamientos Inmunógeno/Estabilizador: la formulación de la vacuna de la etapa 3b fue o es dispensada en alícuotas de 5mL para botellas de liofilización con paredes de maíz estéril y agujas romas estériles. Los tapones estériles fueron o son agregados a cada frasco y los frascos agregados al liofilizador. Después de la liofilización, los frascos fueron rellenos con 10 - 15% de nitrógeno, taponados, sellados y almacenados a 4°C.

EJEMPLO 2

ETAPA 1: PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE PARTIDA DE PROTEÍNA DE BASE VEGETAL

5.0g de proteína de soya (VegeFuel® por Twinlab) fue mezclada con 50mL de agua purificada. La mezcla fue entonces molida en un mezclador. La mezcla fue decantada y el sobrenadante recolectado. La solución fue almacenada a 4°C.

ETAPA 2: PREPARACIÓN DEL COMPONENTE ESTABILIZADOR

N-Z-Amina Tipo YT® (2.5g) (Sheffield Products Co., Norwich, N.Y.), Sacarosa (5.0g) (Sigma, St Louis, Mo.) y Glutamato de Monosodio (0.5g) (Sigma, St Louis, Mo.) fueron agregados a 50mL de agua (Súper Q® purificada) y disueltos. Se agregó calor para incrementar la velocidad de disolución. Esta solución fue agregada a 50.0mL, de 10% de proteína de soya (VegeFuel® por Twinlab) de la Etapa 1. El pH fue ajustado a 7.2 ± 0.1 con KOH y/o HCl. La solución fue entonces dispensada en contenedores adecuados y puesta en autoclaves a temperatura $>121^{\circ}\text{C}$ o tiempo >30 minutos. (Esta solución puede ser almacenada entre $2-7^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 1 mes).

ETAPA 3: PREPARACIÓN Y LIOFILIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN DE LA VACUNA

La preparación del grupo de Virus: un virus de bronquitis infecciosa aviar congelado (IBV), Virus de la enfermedad de Newcastle (NDV), Virus de la enfermedad Bursal Infecciosa (IBDV), Virus de Laringotraqueitis infecciosa (ILT), Virus de Encefalomiелitis aviar (AE), Virus pox aviar, o el reovirus aviar de la preparación fue o es deshelada a 37°C. 50mL del virus calentado o deshelado fue o es agregado a una botella estéril diluido con 400ml de PBS (salina amortiguada con fosfato), y el titulo viral fue registrado (EID₅₀/mL).

Preparación de la formulación de la vacuna: 15mL del componente estabilizador (ver etapa 2 anterior) fue o es agregado a una botella estéril y diluido con 85mL del inmunógeno viral diluido de la etapa 3a. Esta formulación de la vacuna fue o es mezclada durante 5 - 10 minutos, y el titulo de inmunógeno teórico registrado (EID₅₀/mL).

Alícuotas de los agrupamientos Inmunogen/Estabilizador: la formulación de la vacuna de la etapa 3b fue o es dispensada en alícuotas de 5mL para botellas de liofilización con paredes de maíz estéril y agujas romas estériles. Los tapones estériles fueron o son agregados a cada frasco y los frascos agregados al liofilizador. Después de la liofilización, los frascos fueron o son rellenos con 10 - 15% de nitrógeno, taponados, sellados y almacenados a 4°C.

EJEMPLO 3

ETAPA 1: PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE PARTIDA DE PROTEÍNA DE BASE VEGETAL

5.0g de proteína de soya texturizada fue mezclada con 50mL de agua purificada. La mezcla fue entonces molida en un mezclador. La mezcla fue decantada y el sobrenadante recolectado. La solución fue almacenada a 4°C.

ETAPA 2: PREPARACIÓN DEL COMPONENTE ESTABILIZADOR

N-Z-Amina Tipo YT® (2.5g) (Sheffield Products Co., Norwich, N.Y.), Sacarosa (5.0g) (Sigma, St Louis, Mo.) y Glutamato de Monosodio (0.5g) (Sigma, St Louis, Mo.) fueron agregados a 50mL de agua (Súper Q® purificada) y disueltos. Se agregó calor para incrementar la velocidad de disolución. Esta solución fue agregada a la proteína de soya texturizada el 10% en 50.0mL, de la Etapa 1. El pH fue ajustado a 7.2 ± 0.1 con KOH y/o HCl. La solución fue entonces dispensada en contenedores adecuados y puesta en autoclaves a temperatura $>121^{\circ}\text{C}$ o >30 minutos. (Esta solución puede ser almacenada entre $2-7^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 1 mes).

ETAPA 3: PREPARACIÓN Y LIOFILIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN DE LA VACUNA

La preparación del grupo de Virus: un virus de bronquitis infecciosa aviar congelado (IBV), Virus de la enfermedad de Newcastle (NDV), Virus de la enfermedad Bursal Infecciosa (IBDV), Virus de Laringotraqueitis infecciosa (ILT), Virus de

Encefalomiелitis aviar (AE), Virus pox aviar, o el reovirus aviar como preparaciones congeladas fueron o son desheladas a 37°C. 50mL del virus deshelado fue o es agregado a una botella estéril diluido con 400ml de PBS (salina amortiguada con fosfato), y el titulo viral fue registrado (EID₅₀/mL).

La preparación de la formulación de la vacuna: 15mL del componente estabilizador preparado como se detallo en la etapa 2 anterior fue o es agregado a una botella estéril y diluido con 85mL del inmunógeno viral diluido de la etapa 3a. Esta formulación de la vacuna fue o es mezclada durante 5 - 10 minutos, y el titulo del inmunógeno teórico fue registrado (EID₅₀/mL).

Alícuotas de los agrupamientos Inmunógeno/Estabilizador: la formulación de la vacuna de la etapa 3b fue o es dispensada en alícuotas de 5mL en las botellas de liofilización con paredes de maíz estériles y agujas romas estériles. Los tapones estériles fueron o son agregados a cada frasco y los frascos son agregados al liofilizador. Después de la liofilización, los frascos fueron o son rellenos con 10 - 15% de nitrógeno, taponados, sellados y almacenados a 4°C.

EJEMPLO 4

ETAPA 1: PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE PARTIDA DE LA PROTEÍNA DE BASE VEGETAL

5.0g de proteína digerido enzimático de grano de soya fue mezclado con 50mL de agua purificada. La mezcla fue entonces molida en un mezclador, decantada y el sobrenadante recolectado. La solución fue almacenada a 4°C.

ETAPA 2: PREPARACIÓN DEL COMPONENTE ESTABILIZADOR

N-Z-Amina Tipo YT® (2.5g) (Sheffield Products Co., Norwich, N.Y.), Sacarosa (5.0g) (Sigma, St Louis, Mo.) y Glutamato de Monosodio (0.5g) (Sigma, St Louis, Mo.) fueron o son agregados a 50mL de agua (Súper Q® purificada) y disueltos. Se agregó calor para incrementar la velocidad de disolución. Esta solución fue o es agregada a la solución del digerido enzimático de soya al 10%, 50.0mL, de de la Etapa 1. El pH fue ajustado a 7.2 ± 0.1 con KOH y/o HCl. La solución fue o es dispensada dentro de contenedores adecuados y puesta en autoclaves a una temperatura $>121^{\circ}\text{C}$ o >30 minutos. (Esta solución puede ser almacenada entre $2-7^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 1 mes).

ETAPA 3: PREPARACIÓN Y LIOFILIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN DE LA VACUNA

La preparación del grupo de Virus: un virus de bronquitis infecciosa aviar (IBV), Virus de la enfermedad de Newcastle (NDV), Virus de la enfermedad Bursal Infecciosa (IBDV), Virus de Laringotraqueitis infecciosa (ILT), Virus de Encefalomiелitis aviar (AE), Virus pox aviar, o el reovirus aviar como preparaciones congeladas fueron o son desheladas a 37°C . 50mL del virus deshelado fue o es agregado a una botella estéril, diluido

con 400ml de PBS (salina amortiguada con fosfato), y el titulo viral fue registrado (EID_{50}/mL).

La preparación de la formulación de la vacuna: 15mL del componente estabilizador preparado según se detallo en la etapa 2 anterior fue agregado a una botella estéril y diluido con 85mL del inmunógeno viral diluido de la etapa 3a. Esta formulación de vacuna fue o es mezclada durante 5 - 10 minutos, y el titulo del inmunógeno teórico fue registrado (EID_{50}/mL).

Alícuotas de los agrupamientos Inmunógeno/Estabilizador: la formulación de la vacuna de la etapa 3b fue dispensada en alícuotas de 5mL en botellas de liofilización con paredes de maíz estériles y agujas romas estériles. Los tapones estériles fueron agregados a cada frasco y los frascos fueron agregados al liofilizador. Después de la liofilización, los frascos fueron rellenados con 10 - 15% de nitrógeno y luego fueron tapados. Los frascos fueron entonces sellados y almacenados a 4°C.

EJEMPLO 5

ENSAYO DE COMPARACIÓN CON EL ESTABILIZADOR DE BASE ANIMAL

La cepa de vacuna IBV de fluidos cosechados fue formulada con un titulo equivalente en estabilizadores como se describió anteriormente en los Ejemplos 1-4, y comparada con el virus estabilizado en proteína animal en la manera de Poulvac® IB (Massachusetts, M-41 - VS Código 1231.11) y disponible comercialmente de Fort Dodge Animal Health División de Wyeth. Las

muestras fueron obtenidas después de que el virus fue mezclado con el estabilizador, y nuevamente después del ciclo de liofilización, fueron titulados en triplicados, y los títulos de la media geométrica y el pre- y post- liofilización fueron comparados para determinar las perdidas durante el secado por congelamiento.

Los resultados son los siguientes:

Muestra	Titulo de la Media Geométrica Pre-Lio (log/mL)	Titulo de la Media Geométrica Post-Lio (log/mL)	Perdida de Título (log/mL)
IBV + Estabilizador del Ejemplo 1	6.20	5.54	0.66
IBV + Estabilizador del Ejemplo 2	5.40	4.66	0.74
IBV + Estabilizador del Ejemplo 3	5.80	4.61	1.19
IBV + Estabilizador del Ejemplo 4	5.80	4.78	1.02
IBV + Estabilizador con Proteína de Base Animal	5.70	3.65	2.05

El uso de estabilizadores de origen vegetal de los Ejemplos 1-4 en la Tabla anterior resulto en una menor perdida de titulo durante el ciclo de liofilización y en comparación con el uso del estabilizador de proteína de base animal (línea 5 en la Tabla anterior).

Numerosas modificaciones y modalidades alternativas de la presente invención serán evidentes para aquellos versados en la técnica en vista de la descripción anterior. De acuerdo a lo anterior, esta descripción debe ser construida como ilustrativa solamente y tiene el propósito de enseñar a aquellos versados en la técnica el mejor modo de llevar a cabo la presente invención. Los detalles de la estructura pueden variar sustancialmente sin salirse del espíritu de la presente invención, y el uso exclusivo de todas las modificaciones que vengan dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas es reservado. Es el propósito de que la presente invención este limitada solamente por el alcance requerido por las reivindicaciones adjuntas y las reglas aplicables de la ley.

LO QUE SE REIVINDICA ES:

1. Un formulación de vacuna para animales que consiste esencialmente de:
un inmunógeno viral vivo; y
un componente estabilizador que contiene una proteína de base animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto a infección BSE/TSE y una proteína de base vegetal.
2. La formulación de la vacuna para animales de la reivindicación 1, en donde dicho inmunógeno viral vivo es atenuado.
3. El componente estabilizador de la reivindicación 1, en donde dicha proteína de base vegetal es seleccionada de un grupo que consiste de gluten de maíz, proteína de soya, proteína de arroz, proteína de trigo, y proteína de cáñamo.
4. El componente estabilizador de la reivindicación 1, en donde dicha proteína de base animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto a infección BSE/TSE es N-Z-Amina®.
5. La formulación de la vacuna para animales de la reivindicación 1, contiene adicionalmente:
un diluyente.

6. La formulación de la vacuna para animales de la reivindicación 5, en donde dicho diluyente es agua purificada.
7. La formulación de la vacuna animal de la reivindicación 1, contiene adicionalmente:
un azúcar.
8. La formulación de la vacuna animal de la reivindicación 7, en donde dicha azúcar es seleccionada del grupo que consiste de mono-, di-, tri-, y oligosacáridos, tales como glucosa, dextrosa, lactosa, sacarosa, manosa y fructosa.
9. La vacuna para animales de la reivindicación 8, en donde dicha azúcar es sacarosa.
10. La formulación de la vacuna para animales de la reivindicación 1, contiene adicionalmente:
un amortiguador.
11. La formulación de la vacuna para animales de la reivindicación 10, en donde dicho amortiguador es seleccionado de un grupo que consiste de fosfato de sodio, fosfato de potasio, citrato de sodio, lactato de calcio, succinato de sodio, glutamato de sodio, bicarbonato de sodio, y bicarbonato de potasio.

12. La formulación de la vacuna animal de la reivindicación 11, en donde dicho amortiguador es glutamato de monosodio.
13. Una formulación de vacuna para animales consiste esencialmente de un inmunógeno viral vivo;
un componente estabilizador que contiene una proteína de base animal de una fuente libre de infección BSE/TSE, y una proteína de base vegetal;
un diluyente;
un azúcar; y
un amortiguador.
14. La formulación de la vacuna animal de la reivindicación 13, en donde dicho inmunógeno viral vivo es atenuado.
15. La formulación de la vacuna animal de la reivindicación 13, en donde dicho diluyente es agua purificada.
16. La formulación de la vacuna animal de la reivindicación 13, en donde dicho azúcar es seleccionado del grupo que incluye mono-, di-, tri-, y oligosacáridos, tales como glucosa, dextrosa, lactosa, sacarosa, manosa y fructosa.
17. La formulación de la vacuna animal de la reivindicación 16, en donde dicho azúcar es sacarosa.
18. La formulación de la vacuna animal de la reivindicación 13, en donde dicho amortiguador es seleccionado del

grupo que consiste de fosfato de sodio, fosfato de potasio, citrato de sodio, lactato de calcio, succinato de sodio, glutamato de sodio, bicarbonato de sodio, y bicarbonato de potasio.

19. La formulación de la vacuna animal de la reivindicación 18, en donde dicho amortiguador es glutamato de monosodio.

20. El componente estabilizador de la reivindicación 13, en donde dicha proteína de base animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto a una infección BSE/TSE es N-Z-Amina Tipo YT®.

21. El componente estabilizador de la reivindicación 13, en donde dicha proteína de base vegetal es seleccionada de un grupo que comprende de gluten de maíz, proteína de soya, proteína de arroz, proteína de trigo, y proteína de cáñamo.

22. Una formulación de vacuna para animales consiste esencialmente de:

un inmunógeno viral vivo;

un componente estabilizador que contiene una proteína de base animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto a infección BSE/TSE y una proteína de base vegetal, en donde dicha proteína de base animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto a una infección BSE/TSE es N-Z-Amina tipo YT® y dicha

proteína de base vegetal es seleccionada de un grupo que comprende de gluten de maíz, proteína de soya, proteína de arroz, proteína de trigo y proteína de cañamo;

un diluyente, en donde dicho diluyente es agua purificada;

un azúcar, en donde dicho azúcar es seleccionado de un grupo que consiste de mono-, di-, tri-, y oligosacáridos, tales como glucosa, dextrosa, lactosa, sacarosa, manosa y fructosa; y

un amortiguador, en donde dicho amortiguador es seleccionado del grupo que consiste de fosfato de sodio, fosfato de potasio, citrato de sodio, lactato de calcio, succinato de sodio, glutamato de sodio, bicarbonato de sodio, y bicarbonato de potasio.

23. La formulación de vacuna para animales de la reivindicación 22, en donde dicho azúcar es sacarosa.

24. La formulación de la vacuna para animales de la reivindicación 22, en donde dicho amortiguador es glutamato de monosodio.

25. La formulación de la vacuna para animales de la reivindicación 22, en donde dicho inmunógeno viral vivo es atenuado.

26. Un método para preparar una formulación de vacuna que comprende:

formar un componente estabilizador que consiste esencialmente de una proteína de base animal de una fuente sustancialmente libre o segura en cuanto a BSE/TSE y una proteína de base vegetal; y agregar dicho componente estabilizador a un componente de inmunógeno para suministrar una formulación de vacuna.

27. El método establecido en la reivindicación 26, en donde dicha proteína de base vegetal comprende cerca de 0.001 - 6% (p/v), más preferiblemente cerca de 0.001 - 4% (p/v) de dicha formulación de vacuna.

28. El método establecido en la reivindicación 26, en donde dicha proteína de base animal comprende cerca de 0.001 - 3% (p/v), más preferiblemente cerca de 0.001 - 2% (p/v) de dicha formulación de vacuna.

29. El método establecido en la reivindicación 26, en donde dicha formulación de vacuna es liofilizada después de que se ha agregado dicho componente de Inmunógeno.

30. El método establecido en la reivindicación 26, en donde la preparación de dicho componente estabilizador de dicha formulación de vacuna comprende:

disolver dicha proteína de base vegetal en agua purificada para formar una primera solución;

agregar dicha proteína de base animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto a infección BSE/TSE,

dicho amortiguador y dicho azúcar a dicha primera solución; ajustar el pH de dicha solución estabilizadora; filtrar dicho componente estabilizador; y esterilizar dicho componente estabilizador.

31. El método establecido en la reivindicación 30, en donde dicha proteína de base animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto a infección BSE/TSE es N-Z-Amina Tipo YT®, dicho amortiguador es glutamato de monosodio, y dicho azúcar es sacarosa.

32. El método establecido en la reivindicación 30, en donde dicha proteína de base vegetal es seleccionada del grupo que consiste de gluten de maíz, proteína de soya, proteína de arroz, proteína de trigo, y proteína de cáñamo.

33. El método establecido en la reivindicación 30, en donde dicha proteína de base vegetal de dicho componente estabilizador comprende cerca de 0.001 - 30% (p/v) del componente estabilizador, más preferiblemente cerca de 0.01 - 10% (p/v).

34. El método establecido en la reivindicación 30, en donde dicha proteína de base animal de dicho componente estabilizador comprende cerca de 0.001 - 15% (p/v) del componente estabilizador, más preferiblemente cerca de 0.01 - 10% (p/v).

35. El método establecido en la reivindicación 30, en donde dicho azúcar comprende cerca de 0.001 - 6% (p/v) de la formulación de vacuna final, más preferiblemente cerca de 0.001 - 4% (p/v).
36. El método establecido en la reivindicación 30, en donde dicho amortiguador comprende 0.001 - 5% (p/v) de la formulación de vacuna, más preferiblemente cerca de 0.001 - 1% (p/v).
37. El método establecido en la reivindicación 30, en donde dicha disolución comprende adicionalmente:
calentar dicha primera solución.
38. El método establecido en la reivindicación 30, en donde dicha esterilización comprende colocar en autoclave dicha solución.
39. Un estabilizador de vacuna consiste esencialmente de:
proteína de base animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto infección BSE/TSE; y
una proteína de base vegetal.
40. El componente estabilizador de la vacuna de la reivindicación 39, en donde la proporción de dicha proteína de base vegetal con respecto a dicha proteína de base animal está dentro del rango entre cerca de 1:1 a cerca de 3:1.

RESUMEN

Una formulación para vacunas para animales se suministra. La formulación de la vacuna contiene un componente estabilizador y un inmunógeno viral. El componente estabilizador incluye una proteína de base animal sustancialmente segura en cuanto a tener infección TSE/BSE y una proteína de base vegetal. El componente estabilizador suministra la estabilización de una vacuna durante su almacenamiento y administración.

59

pull

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING SUBMISSION OR TRANSMITTAL OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

RENDA, Barbara, L.
Wyeth
Patent Law Department
Five Giralda Farms
Madison, NJ 07940
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 31 January 2007 (31.01.2007)	IMPORTANT NOTIFICATION International filing date (day/month/year) 31 July 2006 (31.07.2006) Priority date (day/month/year) 04 August 2005 (04.08.2005)
Applicant's or agent's file reference AM102013	
International application No. PCT/US2006/029849	
International publication date (day/month/year) Not yet published	
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 date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
04 August 2005 (04.08.2005)	60/705,508	US	25 September 2006 (25.09.2006)

RECEIVED

FEB 22 2007

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 82 70 Form PCT/IB/304 (October 2005)	Authorized officer Philippe Becamel Facsimile No. +41 22 338 90 84 Telephone No. +41 22 338 99 78
---	---

SHEILA McBRIDE

1/C4ZBUGFT0

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

JAN 16 2007

(PCT Rule 44.1)

To:

WYETH

Attn: Renda, Barbara L.

Patent Law Department

Five Giralda Farms

Madison, New Jersey 07940

ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing
(day/month/year) 10/01/2007

Applicant's or agent's file reference
AM102013

FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below

International application No.
PCT/US2006/029849

International filing date
(day/month/year) 31/07/2006

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.

RECEIVED

JAN 19 2007

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 Stefanie Büchler SHEILA MCDONALD
--	--

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference AM102013	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2006/029849	International filing date (day/month/year) 31/07/2006	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 04/08/2005
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 4 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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2006/029849

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K47/18 A61K47/42

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)

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, BIOSIS, WPI Data, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2004/057969 A1 (SMITH MARK L [US] ET AL) 25 March 2004 (2004-03-25)	39,40
A	page 5 - page 20; claims 4,5	1-38
X	US 2003/215455 A1 (REYNOLDS BAILEY [US] ET AL) 20 November 2003 (2003-11-20)	39,40
	the whole document	
A	CHUN BOK-HWAN ET AL: "Development of a varicella virus vaccine stabilizer containing no animal-derived component" BIOTECHNOLOGY LETTERS, vol. 26, no. 10, May 2004 (2004-05), pages 807-812, XP002410429 ISSN: 0141-5492 the whole document	1-40
	-/--	

☒ 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

5 December 2006

Date of mailing of the international search report

10/01/2007

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

Kalsner, Inge

64

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2006/029849

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6 258 362 B1 (LOUDON PETER THOMAS [GB] ET AL) 10 July 2001 (2001-07-10) the whole document -----	

65

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2006/029849

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2004057969 A1	25-03-2004	NONE	
✓ US 2003215455 A1	20-11-2003	US 2005186221 A1	25-08-2005
✓ US 6258362 B1	10-07-2001	NONE	

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

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/US2006/029849

International filing date (day:month:year)
31.07.2006

Priority date (day:month:year)
04.08.2005

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. A61K47/18 A61K47/42

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 66.1bis(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
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Kalsner, Inge

Telephone No. +49 89 2399-8708



12

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2006/029849

Box No. I 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/US2006/029849

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

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	1-38
	No: Claims	39,40
Inventive step (IS)	Yes: Claims	1-38
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-40
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Ad Section V: Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability

1) Documents

D1...US 2003/0215455

2) Novelty and inventive step (Art. 33(2)(3) PCT)

The present application relates to an animal vaccine formulation consisting essentially of a live viral immunogen, and a stabiliser component comprising both an animal-based protein and a vegetable-based protein.

Claim 39 is directed to a vaccine stabiliser consisting essentially of an animal-based protein of a substantially BSE/TSE-safe source, and a vegetable-based protein.

D1 discloses a stabiliser composition which is (among others) composed of a reducing agent and a thermal stabiliser, wherein the thermal stabiliser can be a mixture of e.g. isolated soy protein and caseinate. Hence, D1 is considered novelty destroying for claim 38.

Claims 1, 13 and 22 which are directed to an animal vaccine formulation basically comprising a live viral immunogen and a stabiliser component containing an animal-based and a vegetable-based protein and the claims dependent thereon can be considered to meet the requirements of Art. 33(2)(3) PCT as the prior art does not disclose or suggest a vaccine formulation as defined in these claims.

Likewise, claim 26 which is directed to a method of preparing an animal vaccine formulation and the claims dependent thereon meet the requirements of Art. 33(2)(3) PCT.

20

Bitte beachten Sie, dass angeführte Nichtpatentliteratur (wie z. B. wissenschaftliche oder technische Dokumente) je nach geltendem Recht dem Urheberrechtsschutz und/oder anderen Schutzarten für schriftliche Werke unterliegen könnte. Die Vervielfältigung urheberrechtlich geschützter Texte, ihre Verwendung in anderen elektronischen oder gedruckten Publikationen und ihre Weitergabe an Dritte ist ohne ausdrückliche Zustimmung des Rechtsinhabers nicht gestattet.

Veuillez noter que les ouvrages de la littérature non-brevets qui sont cités, par exemple les documents scientifiques ou techniques, etc., peuvent être protégés par des droits d'auteur et/ou toute autre protection des écrits prévue par les législations applicables. Les textes ainsi protégés ne peuvent être reproduits ni utilisés dans d'autres publications électroniques ou imprimées, ni rediffusés sans l'autorisation expresse du titulaire du droit d'auteur.

Please be aware that cited works of non-patent literature such as scientific or technical documents or the like may be subject to copyright protection and/or any other protection of written works as appropriate based on applicable laws. Copyrighted texts may not be copied or used in other electronic or printed publications or re-distributed without the express permission of the copyright holder.

(21) N° de solicitud:				(51) Int Cl: A61K 47/18, A61K 47/42	
22) Fecha de solicitud:				(71) Solicitante(s) WYETH	
(30) Prioridad	(31) No.	32) Fecha	(33) País	(72) Inventor(es) KUMAR, Mahesh RODENBERG, Jeff H y otros	
	60/705,508	04/08/05	US	(74) Apoderado: ALVARO CORREA ORDOÑEZ	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 04/03/08				(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT				Fecha: 17/02/07	
Fecha de presentación de la solicitud: 31/07/06				N° publicación: WO/2007/019128	
No. de solicitud PCT/US2006/029849					
(54) Título: ESTABILIZADORES PARA VACUNAS VETERINARIAS					

Reivindicación (es)

- Un formulación de vacuna para animales que consiste esencialmente de:
un inmunógeno viral vivo; y
un componente estabilizador que contiene una proteína de base animal de una fuente sustancialmente segura en cuanto a infección BSE/TSE y una proteína de base vegetal.

