

CAVELIER

ABOGADOS

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72 - 35
BOGOTÁ 8, COLOMBIA

Teléfono: (57-1) 347 3611
Telefax: (57-1) 211 8650
(57-1) 700 4814
Fax in U.S.A.: (1-305) 675 7743

Señor Director

DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-021889- -00006-0000

Fecha: 2012-02-17 16:57:51 Dep. 2020 DIR.NUEVASC
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 32

Trámite : 011

Evento : 378

Actuación : 444

Referencia : Expediente No. 08.021.889
Asunto : Solicitud de Patente para
INDICADOR DE OXÍGENO PARA USO EN PRODUCTOS MÉDICOS
Solicitante : **BAXTER INTERNATIONAL INC. AND BAXTER HEALTHCARE S.A.**
Clase : A61J 001/000
Fecha de Solicitud : 29 de Febrero de 2008

1. Yo, Luz Clemencia de PAEZ, obrando como apoderada del solicitante en el asunto antes identificado, me refiero al Oficio No. **18398** notificado por fijación en lista del 25 de Noviembre de 2011.

2. Mediante el Oficio No. **18398** se puso en conocimiento del solicitante el informe del examen de fondo que contiene las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente.

3. De la solicitud de patente

El Examinador considera que las reivindicaciones 1, 2, 9 y 10 no son concisas, puesto que los términos “un amortiguador”, “celulosa”, “un agente de reducción” y “un azúcar de reducción” definen los componentes en términos de su función, mas no por su naturaleza química. De manera similar, menciona que el uso del término “aproximadamente” le resta claridad al capítulo reivindicatorio, ya que este es impreciso y no permite distinguir la invención del estado de la técnica.

Por otro lado, el Examinador afirma que las reivindicaciones 1 a 9 caracterizan la materia por un efecto que se produce al usar el indicador, lo cual no corresponde a una característica técnica del indicador reclamado.

4. Nivel Inventivo

Para el análisis de patentabilidad, el Examinador ha citado las anterioridades:

- D1: US 4 169 811; "Oxygen indicator"
- D2: DE 2 742 875, "Verfahren und Mittel zur Bestimmung von Sauerstoff im Blut"

De acuerdo con el Examinador, proveer un indicador de oxígeno para detectar la presencia de oxígeno en un contenedor médico, resulta obvio y carece de nivel inventivo para el técnico medio en la materia a la luz del indicador de oxígeno estable de la anterioridad D1 y el uso de agentes buffer dentro de una composición para mantener la estabilidad enseñado en D2.

5. Respuesta a las objeciones

De este modo y con el objeto de atender las objeciones arriba mencionadas, se pone de presente al Despacho las siguientes modificaciones, aclaraciones y argumentos:

5.1. Modificación a una Solicitud en Trámite

De conformidad con lo establecido en el artículo 34 de la Decisión 486, que permite al solicitante en cualquier momento del trámite efectuar modificaciones sin ampliar el objeto de la invención inicialmente solicitada, me permito presentar un nuevo capítulo reivindicatorio que comprende 10 reivindicaciones.

De esta manera las objeciones formuladas relacionadas con la falta de claridad y concisión del pliego reivindicatorio quedan superadas respectivamente con las modificaciones realizadas de la siguiente manera:

Inicialmente, se desea poner de presente que la reivindicación 1 ahora especifica que la celulosa del indicador de oxígeno reivindicado es celulosa microcristalina, la cual se encuentra presente a una concentración entre 150 a 210 g/l. Sustento de lo anterior puede encontrarse en el párrafo [00183], página 70 de la memoria descriptiva.

Así mismo, el término "aproximadamente" ha sido eliminado del pliego reivindicatorio, ya que este no permitía distinguir la invención del estado de la técnica. De manera similar, la frase "*en donde luego de la esterilización por autoclave, el color de la forma reducida permanece distinto del color de*

la forma oxidada, y el color de la forma oxidada permanece distinto del color de la forma reducida durante por lo menos seis meses a 40°C”, también ha sido eliminada de las reivindicación 1 y 9, puesto que esta hacía referencia al efecto alcanzado al usar el indicador reclamado.

Por otro lado, el Examinador considera que la reivindicación 1, 2, 9 y 10 no son concisa, toda vez que no es posible definir el alcance la materia reclamada al identificar los elementos “un amortiguador” y “un agente de reducción” por sus funciones. No obstante, resulta necesario aclarar que el reconocimiento de estos compuestos se considera como un trabajo de rutina para un experto medio en la materia, ya que éste se encuentra en capacidad de utilizar sus conocimientos para la interpretación de estos términos al llevar a la práctica soluciones de uso médico, en especial soluciones en las que se debe el pH dentro del rango dado (9.0 a 9.75), y que están sometidas a reacciones de oxido-reducción bajo la presencia de oxígeno.

Como soporte de lo anterior, se trae a colación el artículo 51 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el cual menciona:

Artículo 51.- El alcance de la protección conferida por la patente estará determinado por el tenor de las reivindicaciones. La descripción y los dibujos, o en su caso, el material biológico depositado, servirán para interpretarlas.

Así las cosas, la memoria descriptiva, específicamente en los párrafos [00182] y [00184] de las páginas 79 y 71, sirve para interpretar las reivindicaciones 1, 2, 9 y 10, y los posibles compuestos relacionados con el amortiguador y el agente de reducción usados en el indicador de oxígeno para detectar la presencia de oxígeno en un contenedor médico reivindicado.

Por último, se desea llamar la atención del Señor Examinador al hecho que las reivindicaciones 9 y 10 no repiten materia previamente contenida en las reivindicaciones 1 a 8, ya que estas últimas reclaman el indicador de oxígeno para detectar la presencia de oxígeno en un contenedor médico como tal, mientras que las reivindicaciones 9 a 10 hace referencia al paquete que contiene dicho indicador de oxígeno.

Consideramos entonces que las aclaraciones y modificaciones introducidas al capítulo reivindicatorio dan respuesta a las diferentes objeciones formuladas por el Examinador, de manera que las mismas se ven superadas. Solicitamos atentamente tener en cuenta el nuevo capítulo reivindicatorio que se presenta, el cual cumple con las disposiciones de la Decisión 486.

5.2. Nivel Inventivo

El Examinador cita los documentos D1 y D2, y manifiesta que estos afectan el nivel inventivo de la presente invención, puesto que la combinación de estos lleva a una persona versada en la materia a

obtener las combinaciones descritas en la presente solicitud. A este respecto solicitamos la reconsideración de la objeción, con base en los siguientes argumentos:

La presente solicitud hace referencia a un indicador de oxígeno y aun paquete que lo contiene, donde dicho indicador de oxígeno comprende más de 6 y menos de 60 g/L de carmín de índigo, un amortiguador para ajustar el pH a un rango de 9.0 a 9.75, un agente de reducción, celulosa microcristalina presente entre 150 g/L a 210 g/L, agua, y un color de una forma oxidada del indicador de oxígeno que es distinto de un color de una forma reducida del indicador de oxígeno.

La anterioridad D1, correspondiente al documento US 4 169 811, enseña indicadores de oxígeno que comprenden un tinte en combinación con agentes alcalinos y agentes reductores, como es indicado en el resumen de dicho documento. No obstante, dicho documento no menciona que los indicadores enseñados incluyan dentro de su composición celulosa microcristalina en el rango de concentración específico indicado en la presente solicitud.

Por su parte, el documento D2 (DE 2 742 875) describe un método para la determinación colorimétrica de oxígeno en la sangre, así como los medios para llevar a cabo dicho método. Sin embargo, el método colorimétrico de acuerdo a D2 parte de la oxidación de carmín de índigo reducido en la presencia de un emulsificante a un pH entre 7 y 11, sin hacer mención al uso de celulosa microcristalina en cualquiera de sus formas.

Con relación a lo anterior, se desea llamar la atención del Señor Examinador al hecho que dentro los inventores de la invención bajo estudio encontraron que, de manera sorprendente, al usar celulosa microcristalina a una concentración entre 150 y 210 g/l en el indicador de oxígeno, se da un mayor contraste entre los estados oxidado y reducido. Como sustento de lo anterior, se presenta junto a este memorial una copia de la declaración hecha por uno de los inventores, el Señor Freddy DESBROSSES, ante la Oficina de Patentes de Estados Unidos.

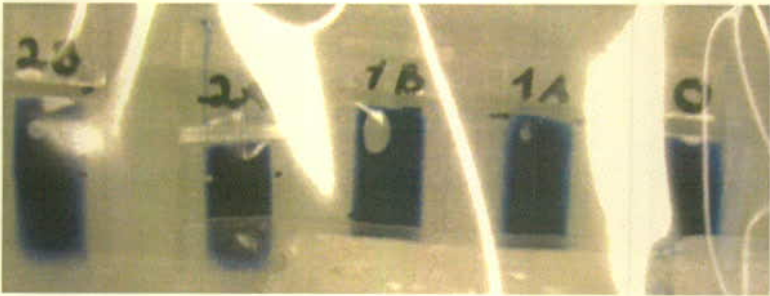
Adjunto a dicha declaración, se presentan las pruebas realizadas en VTT Technical Research Centre of Finland, las cuales demuestran claramente que en la práctica el contraste de color entre las formas oxidada y reducida del indicador de oxígeno que incluye celulosa microcristalina a una concentración entre 150 a 210 g/L.

En la primera prueba realizada, se esterilizaron y compararon dos formulaciones de un indicador de oxígeno utilizando celulosa microcristalina (muestras 1A y 1B), dos formulaciones de un indicador de oxígeno utilizando carboximetil celulosa sódica (muestras 2A y 2B) y una formulación de un indicador de oxígeno correspondiente a la invención sin la presencia de celulosa (muestra 0). Las composiciones de las formulaciones evaluadas se presentan a continuación:

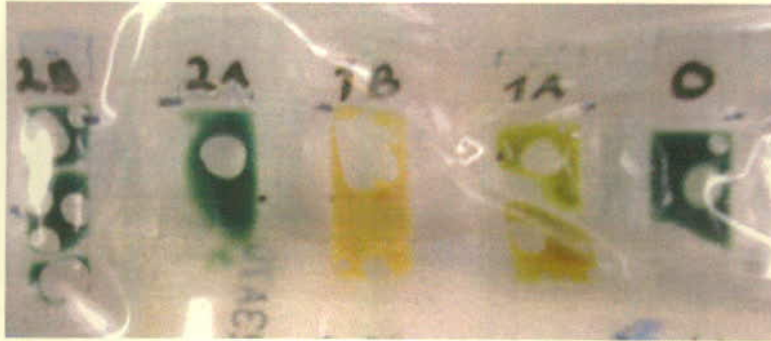
Formulación	Carmin de Indigo (15mg/ 1 ml agua)	Pirofosfato de sodio (solución saturada en agua)	Celulosa microcristalina	CMC	pH
0	2 ml	8 ml	-	-	9.6
1A	2 ml	8 ml	1 g	-	9.2
1B	2 ml	8 ml	3 g	-	8.9
2A	2 ml	8 ml	-	0.15 g	9.5
2B	2 ml	8 ml	-	0.30 g	9.7

Como resultado de la prueba anterior, se encontró que el material de relleno del indicador de oxígeno, es decir, la celulosa microcristalina y la carboximetil celulosa sódica, tenía un efecto sobre el color del indicador de oxígeno durante la esterilización. De esta forma, y como se puede observar en las imágenes a continuación, las formulaciones de un indicador de oxígeno que comprendían celulosa microcristalina (muestras 1A y 1 B) mostraron una coloración altamente contrastante de azul oscuro a amarillo durante la esterilización. Por el contrario, las formulaciones de un indicador de oxígeno que comprendían carboximetil celulosa sódica (muestras 2A y 2B) o que no incluían celulosa microcristalina (muestra 0) mostraron una variación de color entre azul oscuro y verde oscuro, lo cual no permite diferenciar apropiadamente la presencia o ausencia de oxígeno.

Muestras de las formulaciones de un indicador de oxígeno antes de la esterilización



Muestras de las formulaciones de un indicador de oxígeno posterior a la esterilización



Con base en lo anterior, se puede concluir que la presencia de celulosa microcristalina en los indicadores de oxígeno permitió obtener un contraste de color significativamente mejor después de la esterilización, en comparación con los indicadores de oxígeno que incluían carboximetil celulosa o aquellos que no presentaban celulosa.

En el segundo estudio, se esterilizaron y se compararon seis formulaciones de un indicador de oxígeno utilizando dos tipos de celulosa microcristalina y una formulación de un indicador de oxígeno correspondiente sin celulosa microcristalina. El efecto de la concentración de celulosa microcristalina en el rendimiento del indicador de oxígeno se evaluó mediante la reducción del indicador de oxígeno durante la esterilización y la determinación de la tasa de oxidación subsiguiente en las bolsas de fuga.

Durante la esterilización, el indicador de oxígeno sin celulosa microcristalina cambió de azul oscuro a verde oscuro. Adicionalmente, el ensayo demostró que los indicadores de oxígeno que presentaban niveles variables de celulosa microcristalina presentaron un cambio en la coloración de azul oscuro a amarillo, lo cual implica un mayor contraste entre el color oxidado y reducido. Así las cosas, los resultados de este estudio indican que la cantidad óptima de celulosa microcristalina para obtener un color amarillo más brillante después de la esterilización fue de 150 a 250 g/L. Sin embargo, también fue observado que la solución del indicador de oxígeno se espesó significativa a una concentración de 250 g/L, por lo que resulta recomendable el uso de concentraciones menores a 250 g/L de celulosa microcristalina.

Por lo tanto, la declaración y sus correspondientes pruebas anexas al presente memorial demuestran que el uso de celulosa microcristalina 150 a 210 g/l en un indicador de oxígeno aumentó significativamente el contraste de color entre los estados oxidado y reducido del indicador de oxígeno en comparación con los indicadores de oxígeno utilizando otras formas de celulosa o que no incluían celulosa en su formulación. Al combinar los resultados sorprendentes pasados con los componentes adicionales del indicador reivindicado, los inventores fueron capaces de desarrollar una mejora a largo plazo del indicador de oxígeno estable que presenta un color indicador oxidado y un color indicador reducido sustancialmente distinto del primero. El indicador puede ser reducido por tratamiento en autoclave y cualquier oxidación posterior del indicador produce el color oxidado que puede permanecer distinto del color reducido por lo menos seis meses a 40°C.

En vista de lo anterior, se considera que D1 y D2 tomados en combinación resultan insuficientes para que la persona medianamente versada en la materia pueda deducir de manera obvia todas las características de la presente invención, ya que estos no dan indicios suficientes sobre la forma cómo se solucionó dicho problema técnico. Específicamente, ninguno de los documentos citados por su Despacho describe el uso de celulosa microcristalina a una concentración desde 150 g/L hasta 210 g/l, lo que sorprendentemente da un mayor contraste entre los estados oxidado y reducido.

Dado lo anterior, consideramos que las anterioridades citadas por el Examinador no pueden ser consideradas como anterioridades válidas capaces de afectar el nivel inventivo de la presente invención y por ende, la objeción a este respecto debe tenerse por superada.

6. Conclusiones

Finalmente, puesto que se han atendido a cabalidad las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente, respetuosamente solicito se continúe con su tramitación. Sin embargo, en el evento que el Despacho considere que una modificación adicional es necesaria, respetuosamente le solicito hacer uso de la facultad que le otorga el artículo 45 inciso 2 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina a efecto de requerir nuevamente de nuestra parte cualquier complementación o aclaración.

7. Anexos

- Nuevo pliego reivindicatorio, conformado por 10 reivindicaciones.
- Formulario para modificaciones.
- Declaración en Inglés del Señor Freddy DESBROSSES ante la Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos, incluyendo como pruebas los ensayos realizados en el VTT Technical Research Centre of Finland.

Señor Director,


LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ

C.C. No. 35.456.344 de Usaquén

T.P.A. No. 23.555

COLO-13936-847-008-0

COLO-13936-841-014-4

LLG\LLGND-210725\WPC13936

No. M-2012-210725\

 Espacio reservado para el adhesivo de radicación	
FORMULARIO UNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES	
1 SOLICITUD DE: ☒ Corrección de Error Material ☐ Modificación a una solicitud	
2 SOLICITANTE	Nombre: BAXTER INTERNATIONAL INC. y BAXTER HEALTHCARE S.A. Sociedad constituida y existente bajo las leyes del Estado de Delaware, Estados Unidos de América y Suiza, respectivamente. Dirección: One Baxter Parkway, Deerfield, Illinois 60015, Estados Unidos de América y Thurgauerstrasse 130 8152, Glattpark (Opfikon), Suiza Domicilio: Deerfield, Illinois 60015, Estados Unidos de América y Glattpark (Opfikon), Suiza Teléfono: 546 09 70 Fax: 249 40 70 E-mail: clientes@cavelier.com IDENTIFICACION C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Número: _____
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: Luz Clemencia de PAEZ Dirección: Carrera 4ª No. 72-35 Teléfono: 347 36 11 Fax: 217 92 11 E-mail: cavelier@cavelier.com IDENTIFICACION C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Número: <u>35.456.344</u> TP <u>23.555</u>
4 Número de expediente: <u>08.021.889</u>	
5 Descripción de la corrección o modificación solicitada: Presento nuevo capítulo reivindicatorio compuesto por 10 reivindicaciones y pido respetuosamente que el examen de patentabilidad sea realizado sobre estas nuevas reivindicaciones presentadas.	
6 Comprobante de pago No. _____ Fecha: _____	

7

Anexos

- ☐ Comprobante de pago de la tasa por \$120.000, por concepto de modificaciones.
- ☐ Comprobante de pago por reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por.
- ☐ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal de las partes, cuando sean personas jurídicas.
- ☐ Copia auténtica de la sustitución que del poder otorgado por la Sociedad Solicitante hizo el Doctor EMILIO FERRERO a mi favor, y para lo cual solicito me sea reconocida personería para continuar con el trámite del asunto de la referencia.

8

NOMBRE:

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

FIRMA:

Luz Clemencia de Paez

C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P.A. 23.555

LLG

REIVINDICACIONES

1. Un indicador de oxígeno para detectar la presencia de oxígeno en un contenedor médico, el indicador de oxígeno comprende:
 - a) más de 6 y menos de 60 g/L de carmín de índigo;
 - b) un amortiguador para ajustar el pH a un rango de 9.0 a 9.75;
 - c) celulosa microcristalina presente entre 150 g/L a 210 g/L;
 - d) un agente de reducción;
 - e) agua; y
 - f) un color de una forma oxidada del indicador de oxígeno que es distinto de un color de una forma reducida del indicador de oxígeno.
2. El indicador de oxígeno de la reivindicación 1, en donde el carmín de índigo está presente de 10 a 40 g/L, el amortiguador es un amortiguador de fosfato, y el agente de reducción es un azúcar de reducción.
3. El indicador de oxígeno de la reivindicación 2, en donde el carmín de índigo está presente de 14 a 20 g/L, el amortiguador es pirofosfato tetrasodio, y el agente de reducción es dextrosa.
4. El indicador de oxígeno de la reivindicación 3, en donde el pirofosfato tetrasodio está presente de 50 a 80 g/L y la dextrosa está presente de 1 a 5 g/L.
5. El indicador de oxígeno de la reivindicación 4, en donde el pirofosfato tetrasodio está presente de 60 a 75 g/L, la dextrosa está presente de 2.5 a 4 g/L y la celulosa microcristalina está presente en 180 g/L.
6. El indicador de oxígeno de la reivindicación 5 que incluye adicionalmente un paquete permeable al oxígeno que aloja una cantidad del indicador de oxígeno, en donde el indicador de oxígeno incluye 14 g/L del carmín de índigo, 60 g/L de pirofosfato tetrasodio, 2.5 g/L de dextrosa, 180 g/L de celulosa microcristalina y agua.
7. El indicador de oxígeno de la reivindicación 5 que incluye adicionalmente un paquete permeable al oxígeno que aloja una cantidad del indicador de oxígeno, el indicador de oxígeno que incluye 20 g/L de carmín de índigo, 75 g/L de pirofosfato tetrasodio, 4 g/L de dextrosa, 180 g/L de celulosa microcristalina y agua.
8. El indicador de oxígeno de la reivindicación 7, en donde el paquete permeable al oxígeno se adhiere a un contenedor de múltiples cámaras que tiene barreras frágiles que

separan las múltiples cámaras, cada cámara aloja un componente de una formulación nutricional para pacientes de flujo restringido, en donde uno de los componentes incluye cisteína.

9. Un paquete indicador de oxígeno para detectar la presencia de oxígeno en un contenedor médico, el paquete indicador de oxígeno que comprende un paquete permeable al oxígeno, el indicador de oxígeno que incluye:

- i) un color oxidado y un color reducido, el color oxidado es distinto del color reducido;
- ii) más de 6 y menos de 40 g/L de carmín de índigo;
- iii) un amortiguador;
- iv) un agente de reducción;
- v) celulosa microcristalina presente entre 150 g/L a 210 g/L; y
- vi) agua.

10. El paquete indicador de oxígeno de la reivindicación 9 en donde el carmín de índigo está presente de 9 a 30 g/L, el amortiguador es un amortiguador de fosfato, y el agente de reducción es un azúcar de reducción.

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant(s): Trouilly, et al.
Appl. No.: 11/461,980
Conf. No.: 4534
Filed: August 2, 2006
Title: OXYGEN INDICATOR FOR USE IN MEDICAL PRODUCTS
Art Unit: 1797
Examiner: K.A. Moss
Docket No.: 3712044-1633

DECLARATION UNDER 37 C.F.R. § 1.132

Sir:

I hereby state as follows:

1. My experience and qualifications are as follows:
 - Bachelor in Chemistry from the Catholic University of Louvain-la-Neuve (Belgium) in 1983.
 - Master in Analytical Chemistry from the Catholic University of Louvain-la-Neuve (Belgium) in 1985.
 - Employee by Baxter Healthcare since 1987, first for Analytical Chemistry and then for Packaging Development. My actual title is Sr. Manager Packaging Nutrition R&D
2. I am one of the named inventors of the above-identified patent application and am therefore familiar with the invention disclosed therein.
3. Independent Claims 1, 9 and 16 recite an oxygen indicator for detecting the presence of oxygen in a medical container. In an embodiment, the oxygen indicator includes a) indigo carmine, b) a buffer, c) microcrystalline cellulose ranging from about 150 g/L to about 210 g/L, d) a reducing agent, e) water, and f) a color of an oxidized form of the oxygen indicator being distinct from a color of a reduced form of the oxygen indicator. Following sterilization by autoclaving, the color of the reduced form remains distinct from the color of the oxidized form

and the color of the oxidized form remains distinct from the color of the reduced form for at least six months at 40 °C.

4. The claimed oxygen indicator can be placed in a pouch together with a medical container prior to sterilization. The oxygen indicator can be manufactured in its oxidized form and reduced upon steam sterilization. The reduced color of the indicator, i.e., the color of the oxygen indicator prior to exposure to oxygen sufficient to oxidize the oxygen indicator, changes color when oxidized (e.g., exposed to a sufficient amount of oxygen) and the oxidized color remains substantially unchanged visually and distinct from the reduced color. Additionally, the color of the reduced form and the color of the oxidized form do not fade or significantly change during storage of up to six months at 40 °C.

5. Applicants have surprisingly found that the use of microcrystalline cellulose from about 150 to about 210 g/L in the oxygen indicator provides increased color contrast of the oxygen indicator between the oxidized and reduced states. Attached hereto as Exhibits A and B are study #1 and study #2, respectively, demonstrating the unexpected results of the color contrast between the oxidized and reduced forms of an oxygen indicator including microcrystalline cellulose from about 150 to about 210 g/L.

6. In study #1, two formulations of an oxygen indicator using microcrystalline cellulose, two formulations of an oxygen indicator using sodium carboxymethyl cellulose and one corresponding formulation of an oxygen indicator without any cellulose were generated in a pouch and sterilized as listed by Table 1. It was found that the oxygen indicator filler material (i.e., carboxy methyl cellulose and microcrystalline cellulose) had an effect on the oxygen indicator color during sterilization. The oxygen indicator formulations containing microcrystalline cellulose (Recipe #s 1A and 1B) turned from dark blue to yellow during sterilization as shown in Table 2. The oxygen indicator formulations containing sodium carboxymethyl cellulose (Recipe #s 2A and 2B) and no cellulose (Recipe # 0) turned from dark blue to dark green during sterilization as shown in Table 2. The results from this study indicated that the oxygen indicators including microcrystalline cellulose obtained a significantly better

color contrast after sterilization as compared to oxygen indicators including carboxymethyl cellulose or an oxygen indicator having no cellulose.

7. In study #2, six formulations of an oxygen indicator using two types of microcrystalline cellulose and one corresponding formulation of an oxygen indicator without microcrystalline cellulose were generated in a pouch and sterilized as listed by Table 2. The effect of the microcrystalline cellulose concentration on the performance of the oxygen indicator was evaluated by reducing the oxygen indicator during sterilization and determining the rate of subsequent oxidation in the leaking pouch. As shown by Figure 2, during sterilization, the oxygen indicator without microcrystalline cellulose added (Recipe # 2.2) changed from dark blue to dark green. During sterilization, the oxygen indicators having varying levels of microcrystalline cellulose (Recipe #s 2.1, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6 and 2.7) changed from dark blue to yellow, which signified a better color change (e.g., greater contrast between oxidized and reduce color). The results from this study further indicated that an optimal amount microcrystalline cellulose to obtain a brighter yellow color after sterilization was about 150 to about 250 g/L. However, the oxygen indicator solution became quite thick at about 250 g/L so a range lower than 250 g/L was recommended.

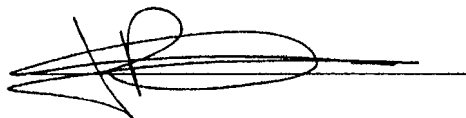
8. In sum, it was found that using microcrystalline cellulose from about 150 to about 210 g/L in an oxygen indicator significantly increased the color contrast between the oxidized and reduced colors of the oxygen indicator as compared to oxygen indicators using other forms of cellulose or no cellulose. By combining these surprising results with additional components of the claimed indicator, Applicants were able to develop an improved, long-term stable oxygen indicator having an oxidized indicator color and a reduced indicator color substantially distinct from the oxidized indicator color. The indicator is reduced by autoclaving and any subsequent oxidation of the indicator produces the oxidized color that can remain distinct from the reduced color for at least six months at 40 °C.

I further declare that all statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these

Appl. No. 11/461,980

statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001, Title 18, United States Code, and that willful false statements may jeopardize the validity of this patent and any patent issuing therefrom.

Date: 06 January 2010

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'F' and 'D' followed by a horizontal line.

Name: Freddy Desbrosses

Ref. Development and Purchase Agreement VTT/Baxter, 23 December, 2003

Trial with different oxygen indicator recipes and packaging materials (14 January, 2004) at VTT

Requested by Baxter R&D Europe S.C.R.L.
Attn. Mr. Freddy Desbrosses
Rue du Progrès 7
1400 Nivelles
Belgium

email: freddy_desbrosses@baxter.com

Aim To evaluate the performance (reduction during sterilisation and the rate subsequent oxidation in leaking secondary packagings) of the VTT's oxygen indicator prototype.

Materials and sample preparation

The tested indicator recipes are presented in Table 1. They were manufactured 13 January. The following indicator components (manufacturer, lot No) were used:

- Indigo carmine (Sigma 1-8130, Lot 95H1123)
- Sodium pyrophosphate (Sigma S-6422, Lot 21K0092)
- Microcrystalline Cellulose (Sigmacell type 50; Sigma S-5504, Lot 74F-0592)
- CMC Sodium Carboxymethyl Cellulose (Cekol 700, Noviant)

Table 1. Tested oxygen indicator recipes and pH of the liquid indicator solution.

Recipe No.	Indigo carmine (15mg/ 1 ml water)	sodium pyrophosphate (saturated solution in water)	micro-crystalline cellulose	CMC	pH
0	2 ml	8 ml	-	-	9.6
1A	2 ml	8 ml	1 g	-	9.2
1B	2 ml	8 ml	3 g	-	8.9
2A	2 ml	8 ml	-	0.15 g	9.5
2B	2 ml	8 ml	-	0.30 g	9.7

Liquid indicator solutions were packed in 12 x 30-mm pouches either in EVA/PCCE or OPP/PP. Indicator pouches were then packed in secondary packaging (PET/Al/PA/sealant) with either one or two oxygen absorbers (Atco HV210/100 Lot/Batch 20033413.122) and a 100-ml lipid container. The packaging materials, oxygen absorbers and lipid containers were sent from Baxter. The size secondary packagings (215 x 155-mm) were gas flushed with 100% nitrogen prior to sealing. The residual oxygen in secondary packaging headspace just after packaging was about 0.25% (measured with PBI Dansensor gas analyser). Steam sterilisation (121 °C, 60 min) of the secondary packaging were performed 1 - 3 hours after packaging on 14 January.

Results

Colour change during sterilisation

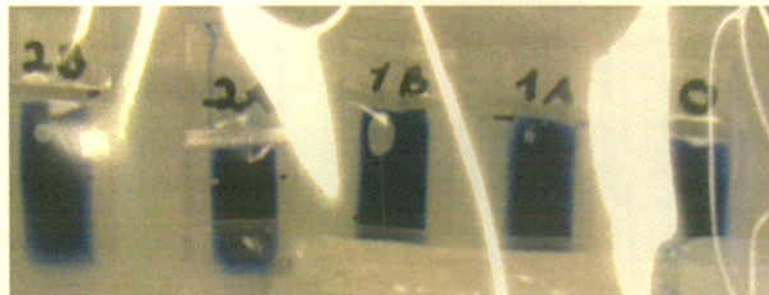
The both the indicator filler material (carboxy methyl cellulose and microcrystalline cellulose) and it's amount in the recipe did have an effect on indicator colour during sterilisation. The indicator recipe containing microcrystalline cellulose (sample 1B) turned from dark blue into yellow during sterilisation (Table 2). The amount of oxygen absorber (1 or 2 absorber/secondary packaging) or the packaging material of oxygen indicator affected not to indicator colour change.

Colour change in leaking packages

This part has not been carried out yet (15 January), i.e., all the secondary package are intact and have no leakages.

Table 2. Indicator colours in intact secondary packaging:

Before sterilisation



After sterilisation





Ref. Development and Purchase Agreement VTT/Baxter, 23 December, 2003

Trial with oxygen indicator recipes (12-24 February, 2004) at VTT

Requested by Baxter R&D Europe S.C.R.L.
 Attn. Mr. Freddy Desbrosses
 Rue du Progrès 7
 1400 Nivelles
 Belgium

Email: freddy_desbrosses@baxter.com

Aims To evaluate the performance of the VTT's oxygen indicator prototype with Merck's reagents and with another lot of Sigma's reagents.

 To evaluate the effect of pH and microcrystalline cellulose concentration on the performance of the oxygen indicator (reduction during sterilisation and the rate of subsequent oxidation in leaking secondary packagings).

 To evaluate whether it is possible to use 0.13 M sodium pyrophosphate solution instead of saturated solution.

 To evaluate how the oxygen indicator behaves during sterilization if it is packed in a leaking package.

Materials and sample preparation

The tested indicator recipes of Experiments 1-4 are presented in Tables 1-4 respectively. The indicators were manufactured on 12-23 February, 2004. The following indicator components (manufacturer, lot No) were used:

1. Indigo carmine (Sigma 1-8130, Lot 033K3520), new lot
2. Tetra-sodium diphosphate decahydrate (Merck 1.06591.2500, Lot F1290791 348)
3. Microcrystalline Cellulose (Avicell; Merck 1.02330.0500, Lot K32219830 340)
4. Sodium pyrophosphate tetrabasic decahydrate (Sigma S-6422, Lot 122K0119), new lot
5. Microcrystalline Cellulose (Sigmacell; Sigma S-5504, Lot 033K0164), new lot
6. Sodium pyrophosphate tetrabasic decahydrate (Sigma S-6422, Lot 21K0092), older lot
7. Microcrystalline Cellulose (Sigmacell; Sigma S-5504, Lot 74F-0592), older lot

VTT TECHNICAL RESEARCH CENTRE OF FINLAND

VTT BIOTECHNOLOGY
Tietotie 2, Espoo
P.O. Box 1500, FIN-02044 VTT
FINLAND

Tel. +358 9 4561
Fax +358 9 455 2103

name.surname@vtt.fi
www.vtt.fi
Business ID 0244679-4

*Table 1. Testing the effect of pH on the performance of the oxygen indicator.*

Recipe No.	Reagents No. used	Indigo carmine (15 mg/ 1 ml water)	Sodium pyrophosphate	Micro-crystalline cellulose	pH
1.1	1, 4, 5	2 ml	0.1 M buffer solution (pH 7.9); 8 ml	-	not measured
1.2	1, 4, 5	2 ml	saturated solution at 22-23°C; 8 ml	-	8.9 (adjusted with 1.0 M HCl)

Table 2. Testing the performance of the oxygen indicator with Merck's reagents (2.2-2.6) and with two different lots of Sigma's reagents (2.1: new sodium pyrophosphate & microcrystalline cellulose; and 2.7: older sodium pyrophosphate & microcrystalline cellulose).

Recipe No.	Reagents No. used	Indigo carmine (15 mg/ 1 ml water)	Sodium pyrophosphate (saturated solution at 22-23°C)	Micro-crystalline cellulose	pH
2.1	1, 4, 5	2 ml	8 ml	3.0 g	9.47
2.2	1, 2, 3	2 ml	8 ml	0 g	9.90
2.3	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.0 g	9.71
2.4	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.5 g	9.65
2.5	1, 2, 3	2 ml	8 ml	2.0 g	9.57
2.6	1, 2, 3	2 ml	8 ml	2.5 g	9.54
2.7	1, 6, 7	2 ml	8 ml	3.0 g	8.90

Table 3. Testing the effect of pH on the performance of the oxygen indicator with Merck's reagents.

Recipe No.	Reagents No. used	Indigo carmine (15 mg/ 1 ml water)	Sodium pyrophosphate (saturated solution at 22-23°C)	Micro-crystalline cellulose	pH adjusted with 0.5-1.0 M HCl
3.1	1, 2, 3	2 ml	8 ml	0 g	9.5
3.2	1, 2, 3	2 ml	8 ml	0 g	9.3
3.3	1, 2, 3	2 ml	8 ml	0 g	9.1
3.4	1, 2, 3	2 ml	8 ml	0 g	8.9
3.5	1, 2, 3	2 ml	8 ml	0 g	8.5
3.6	1, 2, 3	2 ml	8 ml	0 g	8.0
3.7	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.0 g	9.5
3.8	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.0 g	9.3
3.9	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.0 g	9.1
3.10	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.0 g	8.9
3.11	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.0 g	8.5
3.12	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.0 g	8.0
3.13	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.5 g	9.5
3.14	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.5 g	9.3
3.15	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.5 g	9.1
3.16	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.5 g	8.9



3.17	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.5 g	8.5
3.18	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.5 g	8.0
3.19	1, 2, 3	2 ml	8 ml	2.0 g	9.5
3.20	1, 2, 3	2 ml	8 ml	2.0 g	9.3
3.21	1, 2, 3	2 ml	8 ml	2.0 g	9.1
3.22	1, 2, 3	2 ml	8 ml	2.0 g	8.9
3.23	1, 2, 3	2 ml	8 ml	2.0 g	8.5
3.24	1, 2, 3	2 ml	8 ml	2.0 g	8.0

Table 4. Testing the oxygen indicator performance with 0.13 M sodium pyrophosphate solution.

Recipe No.	Reagents No. used	Indigo carmine (15 mg/ 1 ml water)	Sodium pyrophosphate 0.13 M	Micro-crystalline cellulose	pH
4.1	1, 2, 3	2 ml	8 ml	0 g	9.90
4.2	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.0 g	9.69
4.3	1, 2, 3	2 ml	8 ml	1.5 g	9.61
4.4	1, 2, 3	2 ml	8 ml	2.0 g	9.54
4.5	1, 2, 3	2 ml	8 ml	2.5 g	9.49

Liquid indicator solutions were packed in 12 x 30-mm pouches (OPP 25 µm/CPP 25 µm). Indicator pouches were then packed in secondary packaging (PET/Al/PA/sealant) with one oxygen absorber (Atco HV210/100 Lot/Batch 20033413.122) and a 100-ml lipid container. The packaging materials, oxygen absorbers, lipid containers and new reagents were sent from Baxter. The secondary packagings (size 215 x 155-mm) were gas flushed with 100% nitrogen prior to sealing. The residual oxygen in secondary packaging headspace just after packaging was about 0.14-0.45% (measured with PBI Dansensor gas analyser). Steam sterilisation (121 °C, 60 min) of the secondary packaging was performed 1 - 3 hours after packaging on 12-24 February.

Results

The properties of the microcrystalline cellulose of Merck (Avicell) varied to some extent from those of the Sigmacell cellulose. Thus smaller amount of Avicell cellulose (maximum 2.5 g/10 ml) was added to the indicator solution to get similar viscosity to that obtained with Sigmacell. For Sigmacell cellulose 3 g/10 ml has been used.

Experiment 1 - the effect of pH (Sigma's reagents)

It was tested whether the colour change is induced only due to the pH change or whether it is induced by the microcrystalline cellulose itself. As shown in Table 1 (1.2), dilute hydrochloric acid (HCl 1.0 M) was used to adjust the pH of the indicator solution containing only indigo carmine and sodium pyrophosphate, but no microcrystalline cellulose, to the same pH level (8.9) that was caused by the microcrystalline cellulose addition of 3 g

in Report No. 2. During sterilization the colour of the indicator with pH adjusted to 8.9 had changed to green but not to yellow as with microcrystalline cellulose addition (Figure 1, 1.2). The colour did not change at all if 0.1 M sodium pyrophosphate buffer solution (pH 7.9) was contained in the indicator (Figure 1, 1.1).

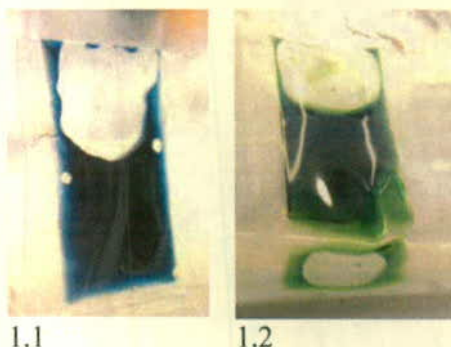


Figure 1. Colour of indicators after sterilization (Sigma, pH adjusted by two different ways, no microcrystalline cellulose added).

Experiment 2 - performance of the indicator with Merck's reagents and with two different lots of Sigma's reagents

The effect of microcrystalline cellulose (Merck) concentration on the performance of the oxygen indicator was tested as shown in Table 2. The effect of two different lots of Sigma's reagents was also tested using the same indigo carmine solution in every recipe.

In case there was no microcrystalline cellulose added, the colour changed during sterilization from blue to green (2.2, Figure 2). The more there was microcrystalline cellulose, the better was the colour change from blue to yellow during sterilization (2.3-2.6, Figure 2). The different lots (Sigma, 2.1 and 2.7, Figure 2) seemed to behave similarly during sterilization - the only differences were noted in pH and viscosity of the solutions (the older lot was more viscous and had lower pH, see Table 2 for pH). The colour changes after leakage (pinhole $\varnothing$ 800 μ m) are also shown in Figure 2.

As a conclusion, in order to get yellow indicator after sterilization, the amount of microcrystalline cellulose (Merck) should be 1.5-2.5 g/ 10ml. The indicator solution becomes quite thick if 2.5 g/ 10 ml concentration is used. Thus we recommend 2.0 g/ 10 ml concentration, but it is also possible to use 1.5 g/ 10 ml as well if it is more suitable for practical reasons. The colour will be light green during sterilization if 1.0 g/ 10 ml concentration is used.

The indicator solution has to be agitated during filling in order to get homogenous indicators. There will be two layers in the indicator pouches within time (solution and precipitate). By using large amount of

microcrystalline cellulose (2.0-2.5 g/ 10 ml) the amount of precipitate becomes larger and thus the indicator looks more homogenous than with smaller amount of precipitate. The effect of water loss (during long storage) on the performance of the indicator should also be studied and taken into account when finally optimizing the formulation of the indicator.

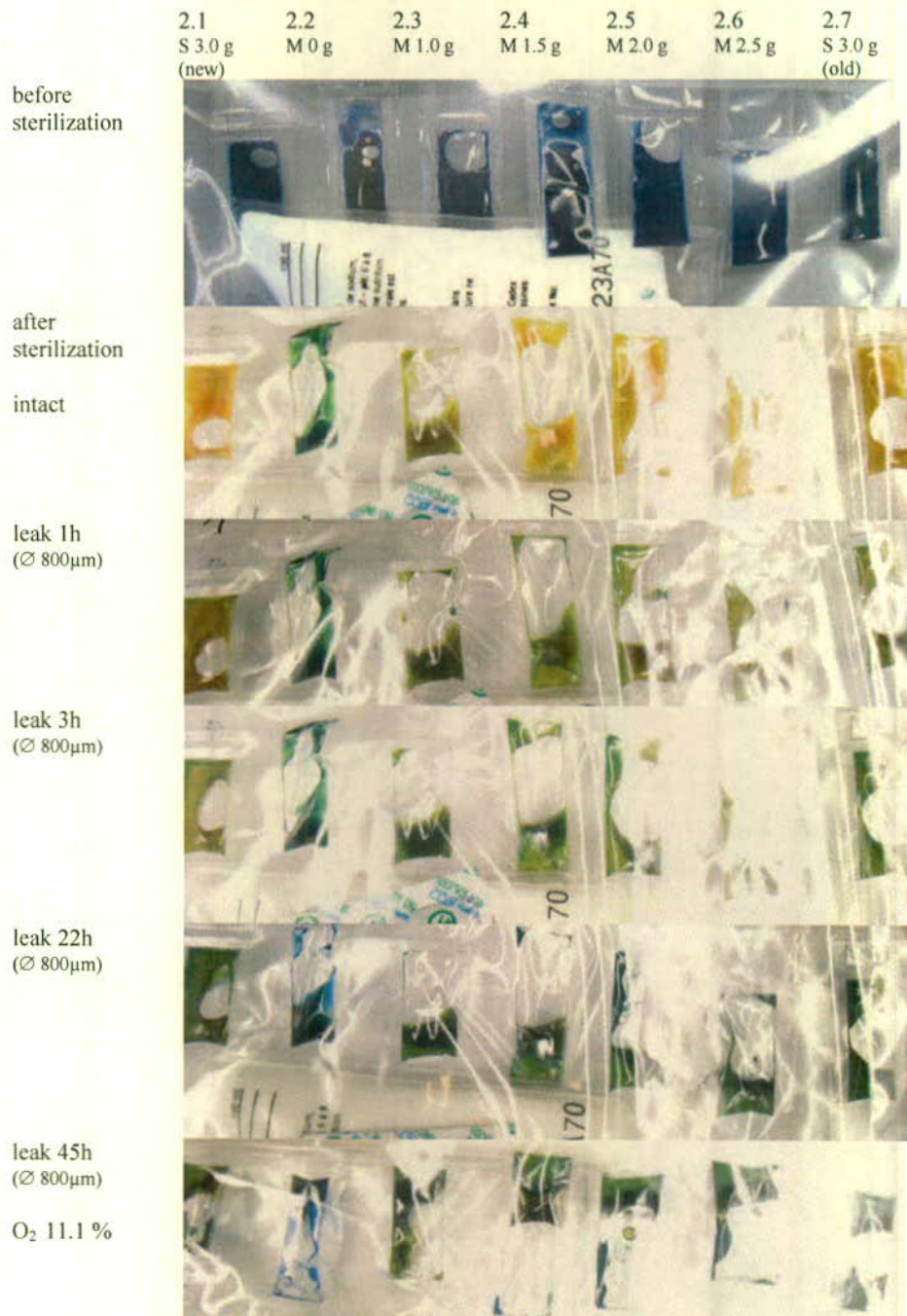


Figure 2. Colour changes of indicators with different amounts of microcrystalline cellulose added. pH not adjusted.

Experiment 3 - the effect of pH (Merck's reagents)

As shown in Table 3, dilute hydrochloric acid (HCl 0.5-1.0 M) was used to adjust the pH of the different indicator solutions to different pH levels (8.0-9.5) in order to determine suitable pH range for the indicators. The colour changes of the indicators with different microcrystalline cellulose amounts and pH values are shown in Figures 3-6.

pH and microcrystalline cellulose ranges as well as colour changes during sterilization are collected from the results of Experiments 2 and 3 to Table 5.

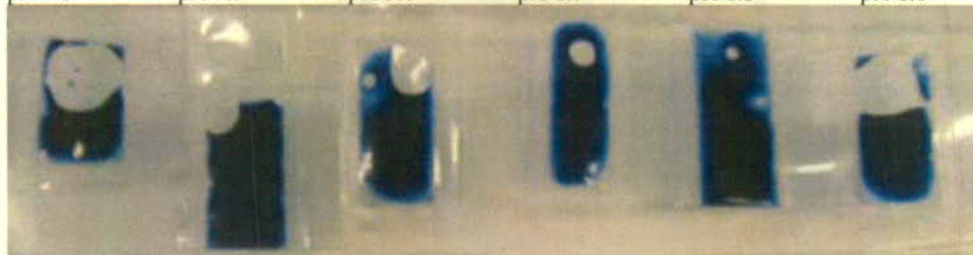
Table 5. Summary of the pH and microcrystalline cellulose ranges tested.

Micro-crystalline cellulose	pH before adjusting	pH range adjusted with 0.5-1.0 M HCl	Colour after sterilization
0 g	9.90	8.0, 8.5, 8.9, 9.1, 9.3, 9.5	green (pH 8.0-9.90)
1.0 g	9.71	8.0, 8.5, 8.9, 9.1, 9.3, 9.5	greenish (8.5-9.71), green (8.0)
1.5 g	9.65	8.0, 8.5, 8.9, 9.1, 9.3, 9.5	yellow (8.5-9.65), greenish (8.0)
2.0 g	9.57	8.0, 8.5, 8.9, 9.1, 9.3, 9.5	yellow (8.0-9.57)
2.5 g	9.54	not adjusted	yellow (9.54)

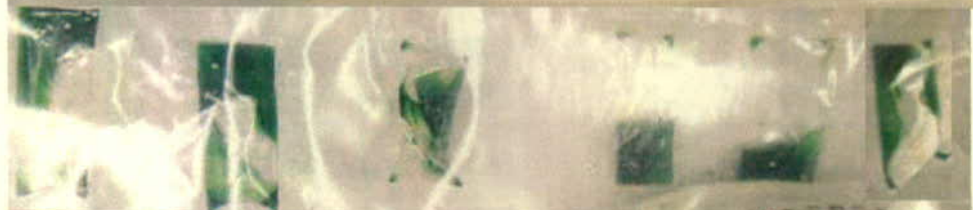
As a conclusion, pH does not have as critical effect on the colour change as the concentration of microcrystalline cellulose. In order to get yellow indicators during sterilization pH is allowed to change as much as 8.5 - 9.65 if the amount of microcrystalline cellulose is 1.5-2.0 g/ 10 ml.

0g/10 ml
before
sterilization

3.1 pH 9.5 3.2 pH 9.3 3.3 pH 9.1 3.4 pH 8.9 3.5 pH 8.5 3.6 pH 8.0



after
sterilization



intact

leak 1h

(Ø 800µm)



leak 3h

(Ø 800µm)



leak 22h

(Ø 800µm)



leak 45h

(Ø 800µm)



O₂ 9.3 %

Figure 3. Colour changes of indicator with no microcrystalline cellulose added (pH adjusted).



Figure 4. Colour changes of indicator with 1 g/10 ml microcrystalline cellulose added (pH adjusted).

1.5g/10 ml

before
sterilization

3.13
pH 9.5

3.14
pH 9.3

3.15
pH 9.1

3.16
pH 8.9

3.17
pH 8.5

3.18
pH 8.0

after
sterilization

intact

leak 1h

(Ø 800µm)

leak 3h

(Ø 800µm)

leak 22h

(Ø 800µm)

leak 45h

(Ø 800µm)

O₂ 16.8 %

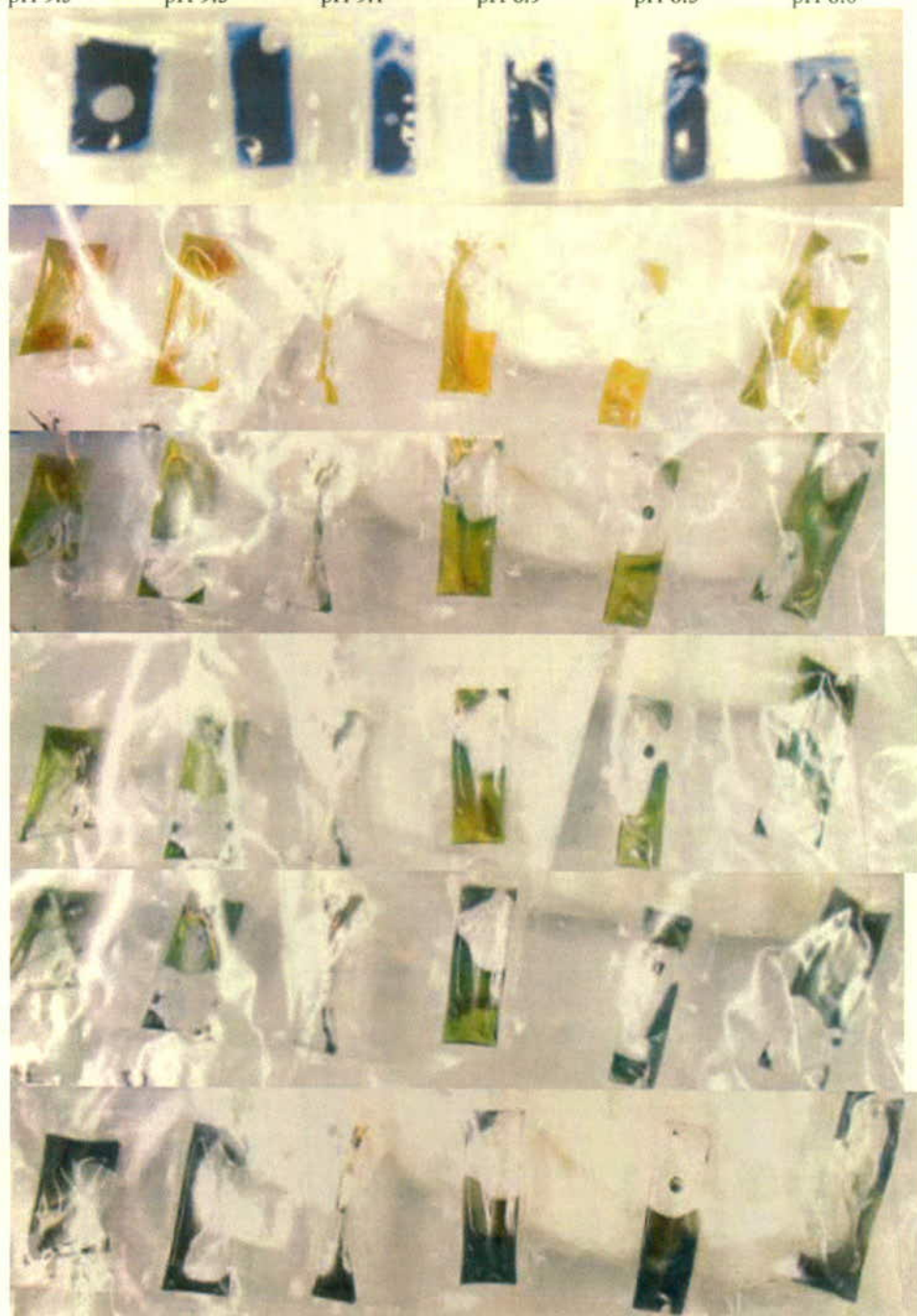


Figure 5. Colour changes of indicator with 1.5 g/10 ml microcrystalline cellulose added (pH adjusted).

2g/10 ml

before
sterilization

3.19 pH 9.5 3.20 pH 9.3 3.21 pH 9.1 3.22 pH 8.9 3.23 pH 8.5 3.24 pH 8.0

after
sterilization

intact

leak 1h

(Ø 800µm)

leak 3h

(Ø 800µm)

leak 22h

(Ø 800µm)

leak 45h

(Ø 800µm)

O₂ 13.2 %



Figure 6. Colour changes of indicator with 2.0 g/10 ml microcrystalline cellulose added (pH adjusted).

Experiment 4 - performance of the indicator with 0.13 M sodium pyrophosphate solution

0.13 M sodium pyrophosphate solution (58 g/l of sodium pyrophosphate tetrahydrate in H₂O) was used instead of saturated sodium pyrophosphate solution as shown in Table 4. Part of the packages was sterilized as intact and part of them was sterilized immediately or 30 minutes after leakage (pinhole $\varnothing$ 800 μ m) was made to the outer packages.

During sterilization the colour of the indicators in intact packages changed from blue to green or yellow depending on the amount of microcrystalline cellulose (Figure 7). After a pinhole ($\varnothing$ 800 μ m) was made to the sterilized, intact packages, the colours changed as shown in Figure 7. The colour changes of these indicators were similar to those indicators containing saturated sodium pyrophosphate solution (see Figure 2).

The colour of the indicators that were sterilized in leaking packages changed during sterilization from blue to green, if the leakage was made 30 minutes before sterilization, or to green or slightly yellow, if the leakage was made just before the sterilization (Figure 8). After sterilization the colours darkened within 1-3 hours as shown in Figure 8. The oxygen concentrations of the leaking packages were quite low (4.2-7.5 %) even 20 hours later than the leakages were made and the packages were sterilized. This is most probably due to the effective oxygen absorber used.



Figure 7. Colour changes of indicators with different amounts of microcrystalline cellulose added. 0.13 M sodium pyrophosphate solution was used. pH not adjusted.



Figure 8. Colour changes of indicators in leaking packages. Leakage was made to the packages either 30 minutes or 0 minutes before sterilization.

Conclusions

- Smaller amount of Merck's microcrystalline cellulose was needed to get similar viscosity to that obtained with Sigma's microcrystalline cellulose. Using suitable recipes, the colour changes of the indicators during sterilization and leakage were similar with the Merck's (sodium pyrophosphate and microcrystalline cellulose) and Sigma's (sodium pyrophosphate and microcrystalline cellulose, 2 different lots) reagents.
 - In order to get yellow indicator after sterilization, the amount of Merck's microcrystalline cellulose should be 1.5-2.5 g/ 10ml. pH does not have as critical effect on the colour change as the concentration of microcrystalline cellulose. In order to get yellow indicators during sterilization pH is allowed to change as much as 8.5 - 9.65, if the amount of microcrystalline cellulose is 1.5-2.0 g/ 10 ml.
 - Saturated sodium pyrophosphate solution can be replaced with 0.13 M sodium pyrophosphate solution. Smaller concentrations of sodium pyrophosphate solution than 0.13 M have not been tested.
 - During sterilization, the colour changes of the indicators that were sterilized in packages with small pinhole were not as effective as the colour changes of the indicators sterilized in intact packages. The colour changes from blue to green or slightly yellow observed in the leaking packages during sterilization were probably due to the very small leakage ($\varnothing$ 800 μ m, 0 or 30 minutes before sterilization) and due to the effective oxygen absorber.
-