

REIVINDICACIONES:

1. Un proceso para preparar una vacuna tetravalente atenuada contra el dengue, CARACTERIZADO PORQUE comprende:

(i) amplificar las células Vero en cultivo para producir bancos de células Vero maestro y de trabajo, en donde las células Vero se adaptan para su crecimiento en un medio libre de suero, se cultivan en un medio libre de suero y se subcultivan con una tripsina que no es de origen animal;

(ii) infectar las células Vero del banco maestro o de trabajo con los serotipos 1, 2, 3 y 4 del virus del dengue atenuado de un banco de siembra o de trabajo de cada virus, en donde las células Vero se infectan de manera independiente con los serotipos 1, 2, 3 y 4 del virus del dengue atenuado en cultivos separados con medio libre de suero;

(iii) incubar las células Vero infectadas con cada virus del dengue a $36,5^{\circ}\text{C} (\pm 1^{\circ}\text{C})$ por entre 10 y 20 días en un frasco de cultivo tisular (TC) de 225 cm^2 o en un sistema multicapas para cultivo celular

(iv) cosechar los sobrenadantes de cada cultivo;

(v) filtrar cada suspensión de virus del dengue del paso (iv) a través de una membrana con $0,2\text{ }\mu\text{m}$ de porosidad y guardar el virus del dengue filtrado a $-80^{\circ}\text{C} (\pm 5^{\circ}\text{C})$;

(vi) preparar preparaciones a granel de los serotipos 1, 2, 3 y 4 del virus del dengue;

(vii) formular vacunas monovalentes; y

(viii) formular una vacuna tetravalente mediante mezclado de las vacunas monovalentes.

2. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO

PORQUE la línea de células Vero usada es ATCC CCL-81.4.

3. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE el sobrenadante se cosecha en el paso (iv), se agrega un volumen igual de medio libre de suero al cultivo, y se repiten los pasos (iii) y (iv).

4. El proceso de acuerdo con la reivindicación 3, CARACTERIZADO PORQUE los pasos (iii) y (iv) se repiten entre una y siete veces aproximadamente.

5. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE las cepas del virus del dengue usadas son, de preferencia, rDEN1Δ30-1545 (SEQ ID N°: 1); rDEN2/4Δ30(ME)-1495,7163 (SEQ ID N°: 2); rDEN3Δ30/31-7164 (SEQ ID N°: 3) y rDEN4Δ30-7132,7163,8308 (SEQ ID N°: 4).

6. El proceso de acuerdo con la reivindicación 5, CARACTERIZADO PORQUE la multiplicidad de infección (MOI) de las cepas del virus del dengue para cada serotipo del dengue es: entre 0,01 y 0,03 para DENV 1 y 4, entre 0,02 y 0,04 para DENV 2 y entre 0,05 y 0,08 para DENV3.

7. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE las vacunas monovalentes se mezclan a la misma relación de volumen para obtener la vacuna tetravalente contra los serotipos 1,2,3,4 del dengue (atenuada).

8. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE además comprende los pasos de llenar los viales con la vacuna tetravalente; liofilizar la vacuna tetravalente en los viales; sellar los viales con la vacuna tetravalente liofilizada; y guardar el producto liofilizado y sellado a 2-8 °C.

9. El proceso de acuerdo con la reivindicación 8, CARACTERIZADO PORQUE los parámetros usados en el proceso de liofilización son: congelamiento (entre -30 y -50 °C), vacío (entre 20 y 100 μ bar), secado primario a valores de entre -30 y -50 °C (36 a 42 h) y entre -5 y -10 °C (18 a 24 h) un secado secundario a valores de entre 25 y 29 °C (8 a 15 h).

10. Una vacuna tetravalente atenuada contra el dengue, CARACTERIZADA PORQUE se produce mediante el proceso que se describe en la reivindicación 1.

11. Un proceso para preparar una vacuna tetravalente contra el dengue, CARACTERIZADO PORQUE comprende adicionalmente el paso de reconstituir la vacuna tetravalente contra el dengue sellada y liofilizada de la reivindicación 1 en una composición que comprende fosfato de sodio monobásico dihidrato 0,2 M, fosfato de sodio dibásico heptahidrato 0,2 M y agua.

Señor

Director de la Dirección de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Industria y Turismo

E. S. D.

Re.: Expediente No. **NC2018/0003451**

Solicitud de Patente PCT entrada en Fase Nacional, para:

**“PROCESO DE PREPARACIÓN DE UNA VACUNA TETRAVALENTE
CONTRA EL DENGUE, QUE COMPRENDE LOS SEROTIPOS 1, 2, 3 Y 4
ATENUADOS DEL VIRUS DEL DENGUE”.**

Solicitante: **FUNDAÇÃO BUTANTAN**

RESPUESTA A EXAMEN DE FONDO

Yo, **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, obrando en mi calidad de apoderada de la sociedad solicitante del asunto citado en la referencia, en atención a su oficio No. **5531** del 28 de junio de 2019, atentamente me permito dar respuesta al mismo de la siguiente manera:

1. Modificación a las Reivindicaciones

De acuerdo con lo establecido en el Artículo 34 de la Decisión 486 y en vista de las observaciones realizadas por el examinador, se presenta en esta oportunidad un nuevo pliego reivindicatorio conformado por **11 reivindicaciones**, en donde se han realizado las siguientes modificaciones:

- No se incluye las antiguas reivindicaciones 1 a 4. Por lo tanto, la nueva reivindicación independiente es la antigua reivindicación 5.
- En vista de la modificación mencionada, las reivindicaciones 6 a 15 se han reenumerado así como sus dependencias.
- La nueva reivindicación 1 (antigua reivindicación 5) especifica en el paso (iii) que la cubar las células Vero infectadas con cada virus del dengue a 36,5 °C (± 1 °C) por entre 10 y 20 días en un frasco de cultivo tisular (TC) de 225 cm² o en un sistema multicapas para cultivo celular.
- Las antiguas reivindicaciones 16 y 17 no se incluyen en esta oportunidad.

2. Claridad y concisión

2.1. Título

Indica el Examinador que el título tituló la invención como: “PROCESO DE PREPARACIÓN DE UNA VACUNA TETRAVALENTE ATENUADA CONTRA EL VIRUS DEL DENGUE” es general con relación al objeto de la solicitud contenido en la descripción y las reivindicaciones, por lo cual se sugiere el título siguiente: “PROCESO DE PREPARACIÓN DE UNA VACUNA TETRAVALENTE CONTRA EL DENGUE, QUE COMPRENDE LOS SEROTIPOS 1, 2, 3 Y 4 ATENUADOS DEL VIRUS DEL DENGUE”.

Siguiendo las recomendaciones del Examinador, el título de la solicitud se ha modificado para que se lea así:

“PROCESO DE PREPARACIÓN DE UNA VACUNA TETRAVALENTE CONTRA EL DENGUE, QUE COMPRENDE LOS SEROTIPOS 1, 2, 3 Y 4 ATENUADOS DEL VIRUS DEL DENGUE”.

2.2. Reivindicaciones

Tal como se ha indicado previamente, el pliego reivindicatorio se ha modificado para que resulte más claro y conciso. No obstante lo anterior, se solicita tener en cuenta las siguientes aclaraciones en relación a las objeciones puntuales del examinador:

2.2.1. Las reivindicaciones 1 y 5 no son claras, porque se refieren al “Cell Factory System™”, que corresponde a una marca registrada bajo la cual se relaciona un producto determinado que es susceptible de modificar sus características con el paso del tiempo sin modificar dicho nombre. Por lo tanto, se sugiere omitir esta marca y reemplazarlo por los términos que refieren al producto (reactor, incubadora, entre otros).

A fin de superar la objeción, no se incluye la marca registrada “Cell Factory System™” y en su reemplazo se indica que es un sistema multicapas para cultivo celular.

2.2.2. Las reivindicaciones 5, 7 a 9, 12, 16 y 17 no son concisas, porque estas repiten materia que se reclaman en reivindicaciones que las preceden. Por lo tanto, se sugiere omitir la información que se repite, e incluir dentro de las mismas características esenciales adicionales o específicas.

Considerando que las antiguas reivindicación 1 a 4 y 16 y 17 no se incluyen en esta oportunidad, la objeción se supera.

En vista de las aclaraciones presentadas, es posible determinar que el pliego reivindicatorio que se presenta en esta oportunidad es claro y conciso, cumpliendo con los lineamientos establecidos en el Artículo 30 de la Decisión 486

3. Determinación del Estado de la Técnica

El examinador ha determinado el arte previo con base en la fecha de la presentación de la solicitud de la cual se invoca prioridad, siendo esta 8 de septiembre de 2015. Se han citado el documento D1: WHO Technical Report Series, No. 932, 2006.

4. Nivel Inventivo

El examinador ha indicado, basado en su análisis de nivel inventivo, que la presente solicitud carece de este requisito de patentabilidad debido que persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir la tripsina mencionada en el documento D1 en el proceso divulgado dentro del mismo documento, donde este aditivo debe cumplir con las características dispuestas con el fin de que la vacuna sea inocua, para así llegar al objeto de las reivindicaciones 1 y 5. Por lo cual se considera obvia.

Primeramente, se solicita tener en cuenta que las antiguas reivindicaciones 1 a 4 no se incluyen en esta oportunidad. De otra parte, la tecnología que se reclama en esta solicitud, la cual está dirigida al desarrollo de una la vacuna contra el dengue, cuenta con diferentes ventajas que se discuten a continuación.

Como se explica en los párrafos [0010] a [0013] de la presente solicitud, la presente invención, a diferencia de otros documentos del estado de la técnica anterior, describe un proceso para la preparación de una vacuna atenuada contra el dengue tetravalente, que permite la producción de vacunas contra el dengue a gran escala.

En el desarrollo de la vacuna de la presente invención se estableció el siguiente:

- (i) amplificación de células Vero en cultivo para producir bancos de células Vero maestro y de trabajo
- (ii) infectar las células Vero del banco maestro o de trabajo con el virus de la fiebre del dengue (serotipos 1, 2, 3 y 4) de un banco de semillas o de trabajo,
- (iii) incubar en matraces de cultivo de tejidos de 225 cm² (matraces TC) a 36,5 ° C (+/- 1 ° C) durante 10 a 20 días,
- (iv) recolectar de los sobrenadantes,
- (v) filtrar cada suspensión del virus del dengue,
- (vi) preparar de grandes cantidades de virus del dengue,
- (vii) formular de vacunas monovalentes,
- (viii) formular una vacuna tetravalente mezclando vacunas monovalentes,
- (ix) llenado de viales con vacuna,
- (x) liofilización de la vacuna tetravalente,
- (xi) sellado de la vacuna tetravalente liofilizada en los viales, y
- (xii) almacenamiento del producto liofilizado y sellado a 2-8 ° C

También es importante aclarar que el proceso debe analizarse como un todo, que consiste en un conjunto de pasos esenciales para la producción efectiva de la vacuna contra el dengue. Cada paso es importante para que el proceso presente un alto rendimiento, reproducibilidad, estabilidad, ausencia de contaminantes animales y para

que el proceso se pueda llevar a cabo a gran escala, produciendo una vacuna segura e inmunogénica.

Además, se enfatiza que cada paso del proceso no debe leerse individualmente. Las células Vero, por ejemplo, utilizadas en el presente proceso como sustrato celular para replicar las cepas de los virus del dengue, son células que normalmente se usan como sustrato celular para el crecimiento no solo del virus del dengue, sino también de otros virus con fines de investigación y para producir vacunas contra por ejemplo la rabia, rotavirus, influenza y otros que usan esta línea celular como sustrato. Sin embargo, este es uno de varios pasos del proceso como se reivindica en la presente invención.

A continuación se presenta una descripción de la importancia de los diferentes pasos del proceso, considerando que todos deben leerse juntos:

- ATCC CCL 81.4 Banco de origen de células Vero con paso bajo (paso 123): permite un mayor número de subcultivos de esta línea celular, es decir, un número mucho mayor de viales con subcultivos, ya que esta célula solo puede subcultivarse en la relación máxima de 1 vial a 6 corresponsales. Un mayor número de viales permite obtener una suspensión celular con un mayor número de células.

- Vero maestro y bancos de células de trabajo preparados con células mantenidas en medio de cultivo sin suero, subcultivadas con tripsina de origen no animal y estabilizadas con DMSO al 5%: el uso de un medio de tripsina libre de suero y no animal en los subcultivos de mantenimiento y la amplificación de las células Vero conduce a una mayor reproducibilidad, haciendo que el proceso sea más seguro y libre de la posibilidad de contaminación del producto final con priones y microorganismos del suero animal o la tripsina animal, como el circovirus de origen porcino.

- Las células Vero cultivadas en viales TC de 225 cm² (viales de cultivo de tejidos) o sistema multicapa con bandejas de 10 capas (Thermo Fisher Scientific Inc. Pittsburgh, PA, EE. UU.; Área de cultivo de aproximadamente 6.320 cm² o similar), permite una alta producción de células de hasta aproximadamente 2x10⁹ células/sistema. El mantenimiento de los cultivos de estas células se realiza en horno de secado sin presencia de CO₂, diferente de lo que ocurre habitualmente en el mantenimiento de esta línea celular.

- La infección viral de las células que ocurre con la suspensión celular agitándose durante 30 minutos en un horno de secado a 36 ° ± 1 °C y luego esta suspensión de células infectadas (virus + células) se distribuye en los viales o sistema multicapa, aumentando a productividad viral del proceso. Este no es un procedimiento de rutina en las inoculaciones del virus del dengue en las células Vero, los virus se inoculan en las monocapas de los viales que contienen estas células.

- Aumento en el volumen final de suspensión viral obtenida en un ciclo de producción debido a la tecnología de cosechas sucesivas (cada 24 horas) de los sobrenadantes de cultivos infectados, con reemplazo del medio de cultivo: volumen de 24 L (DEN1, DEN2 y DEN4) y 36L (DEN3) / 40 botellas de 225 cm², en lugar de obtener solo L con una sola cosecha. En el sistema multicapa, este volumen es mayor, alrededor de 1.600 a

1.800 L / un sistema / colección. En la práctica, para la producción de virus de rutina, solo se produce una cosecha después de congelar y descongelar el vial infectado.

- Se pueden realizar hasta ocho recolecciones de los sobrenadantes de los cultivos infectados durante el ciclo de producción del virus. La primera cosecha de sobrenadantes de los cultivos infectados, se da entre los días 10 (DEN1 y DEN4) y 13 (DEN3). Después de que los sobrenadantes de cultivo se cosechan cada 24 horas, se inserta nuevamente un nuevo medio en el mismo volumen que el recogido. La extracción múltiple en la misma inoculación viral no es una práctica habitual y es una técnica que aumenta considerablemente el volumen de las suspensiones virales recolectadas.

- La presente invención también enseña el momento óptimo para la recolección de sobrenadantes de suspensión viral mediante estudios de curvas de replicación de los serotipos 1, 2, 3 y 4 del virus del dengue en células Vero cultivadas en TC y sistema multicapa, permitiendo el aumento en el número de cosechas.

- La presente invención enseña que el intercambio del 50 al 60% del medio de cultivo dos días antes de que se inicie la recolección de los sobrenadantes de los cultivos infectados, disminuye los componentes celulares, principalmente las enzimas que se originan en las células huésped y la concentración de metabolitos resultantes de crecimiento celular después de varios días de cultivo. La presencia de estos componentes en mayor concentración en el sobrenadante del cultivo puede afectar las partículas virales, haciéndolas defectuosas, es decir, incapaces de multiplicarse. El intercambio de parte del medio, permite un aumento en el rendimiento viral y las cosechas con mayor grado de pureza.

- A diferencia de las formulaciones rutinarias para vacunas con más de una cepa viral, la vacuna tetravalente de la presente descripción se formula con vacunas monovalentes de cada serotipo del virus del dengue, preparadas previamente con títulos de virus del dengue de acuerdo con cada serotipo (5.7 ± 0.2 , 5.6 ± 0.2 , 6.1 ± 0.2 y $5, 8 \pm 0.2$ Log10 UFP/mL para DENV1, DENV2, DENV3 y DENV4, respectivamente), lo que permite una mayor homogeneidad de las partículas de virus de cada serotipo en la vacuna tetravalente. Se determinaron los títulos de los monovalentes, debido a las pérdidas de títulos virales que se producen para cada serotipo durante la formulación de la vacuna tetravalente, los procesos de filtración esterilizante, envasado y liofilización del producto.

- Los pasos de envasado y liofilización del proceso reivindicado proporcionan una vacuna que es estable durante 1 año a 2-8 °C.

En resumen, el proceso para la preparación de una vacuna atenuada contra el dengue tetravalente de la presente solicitud muestra un mayor rendimiento y es reproducible, permitiendo la producción de la vacuna contra el dengue a gran escala.

La elección del tamaño de la botella o el sistema de cultivo del vaso (sistema de fábrica de células) no debe considerarse una determinación de rutina, ya que la elección de un sistema para el mantenimiento de las células utilizadas en la infección viral implica los siguientes aspectos: interacción de las células infectadas con la cantidad de aire disponible en el sistema, ya que principalmente la concentración de oxígeno y CO₂ interfiere en el crecimiento celular y la replicación viral. Por lo tanto, la replicación de los serotipos del virus del dengue, así como la determinación de los días de incubación de los cultivos y de las cosechas es diferente para los cultivos en TC-Flask y el sistema celular de varias capas.

La determinación del tiempo de incubación de las células Vero infectadas con cada virus tampoco debe considerarse de rutina, ya que en el proceso de producción de suspensiones virales, el tiempo de incubación de los cultivos infectados es específico para cada tipo de virus y cepa viral, ya que tiene en cuenta el ciclo de replicación viral de cada cepa viral, el tipo de célula infectada y el medio de cultivo utilizado para el mantenimiento de estas células. Esto ocurre incluso en los serotipos del mismo género de virus, como se observó en la producción del virus del dengue 1, 2, 3 y 4, donde las construcciones de las cepas se produjeron de manera diferente. Para la producción de cepas de virus DEN1 y DEN4, el tiempo de incubación es de 15 días, mientras que para DEN2 es de 17 días y para DEN3 es de 20 días.

Para elegir el tamaño de la membrana utilizada en la filtración de la suspensión del virus del dengue, se tienen en cuenta no solo la porosidad de la membrana sino también su composición y su interacción principalmente con las partículas virales y otros componentes del producto. El aspecto principal a considerar al elegir una membrana es evitar la pérdida de partículas virales durante el proceso de filtración. Por lo tanto, no debe considerarse rutina.

Con respecto a la determinación de un procedimiento para liofilizar la vacuna tetravalente contra el dengue, a diferencia de la liofilización de un producto que consiste en una o unas pocas moléculas en las que se consideran los puntos eutécticos de cada una de ellas, para establecer los parámetros de liofilización, especialmente la temperatura de congelación de la fase de secado primaria de esta vacuna, compuesta de numerosas moléculas, fue necesaria para establecer el punto vítreo del producto. En el proceso de liofilización, se deben establecer parámetros de temperatura y tiempo para las fases primaria, secundaria y de transición entre estas fases. Para la vacuna contra el dengue, un producto del proceso reivindicado en la presente solicitud, la inserción de dos temperaturas en este paso del proceso fue esencial para evitar el colapso de los gránulos del producto.

En vista de lo anterior, las reivindicaciones de la solicitud son inventivas con respecto al arte previo, cumpliendo con lo establecido en el Artículo 18 de la Decisión 486.

5. Conclusión

Teniendo en cuenta las modificaciones introducidas en esta oportunidad y los argumentos que se presentan, es posible establecer que las reivindicaciones del nuevo pliego reivindicatorio cumplen con los requerimientos de la Decisión 486.

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por once (11) reivindicaciones.

Señor Director,



Margarita Castellanos Abondano

C.C. No. **39.779.654** de Bogotá

T.P.A. No. **70.819** del C.S.J.

Calle 94A No. 7A-09 - Bogotá, D.C.

Teléfono: 7560770

Bogotá, D.C.
MCA/lt
P4840
RESPUESTA AO 5531

REIVINDICACIONES:

1. Un proceso para preparar una vacuna tetravalente atenuada contra el dengue, CARACTERIZADO PORQUE comprende:

(i) amplificar las células Vero en cultivo para producir bancos de células Vero maestro y de trabajo, en donde las células Vero se adaptan para su crecimiento en un medio libre de suero, se cultivan en un medio libre de suero y se subcultivan con una tripsina que no es de origen animal;

(ii) infectar las células Vero del banco maestro o de trabajo con los serotipos 1, 2, 3 y 4 del virus del dengue atenuado de un banco de siembra o de trabajo de cada virus, en donde las células Vero se infectan de manera independiente con los serotipos 1, 2, 3 y 4 del virus del dengue atenuado en cultivos separados con medio libre de suero;

(iii) incubar las células Vero infectadas con cada virus del dengue a $36,5^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) por entre 10 y 20 días en un frasco de cultivo tisular (TC) de 225 cm^2 o en un sistema multicapas para cultivo celular

(iv) cosechar los sobrenadantes de cada cultivo;

(v) filtrar cada suspensión de virus del dengue del paso (iv) a través de una membrana con $0,2\text{ }\mu\text{m}$ de porosidad y guardar el virus del dengue filtrado a -80°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$);

(vi) preparar preparaciones a granel de los serotipos 1, 2, 3 y 4 del virus del dengue;

(vii) formular vacunas monovalentes; y

(viii) formular una vacuna tetravalente mediante mezclado de las vacunas monovalentes.

2. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE la línea de células Vero usada es ATCC CCL-81.4.

3. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE el sobrenadante se cosecha en el paso (iv), se agrega un volumen igual de medio libre de suero al cultivo, y se repiten los pasos (iii) y (iv).

4. El proceso de acuerdo con la reivindicación 3, CARACTERIZADO PORQUE los pasos (iii) y (iv) se repiten entre una y siete veces aproximadamente.

5. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE las cepas del virus del dengue usadas son, de preferencia, rDEN1Δ30-1545 (SEQ ID N°: 1); rDEN2/4Δ30(ME)-1495,7163 (SEQ ID N°: 2); rDEN3Δ30/31-7164 (SEQ ID N°: 3) y rDEN4Δ30-7132,7163,8308 (SEQ ID N°: 4).

6. El proceso de acuerdo con la reivindicación 5, CARACTERIZADO PORQUE la multiplicidad de infección (MOI) de las cepas del virus del dengue para cada serotipo del dengue es: entre 0,01 y 0,03 para DENV 1 y 4, entre 0,02 y 0,04 para DENV 2 y entre 0,05 y 0,08 para DENV3.

7. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE las vacunas monovalentes se mezclan a la misma relación de volumen para obtener la vacuna tetravalente contra los serotipos 1,2,3,4 del dengue (atenuada).

8. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE además comprende los pasos de llenar los viales con la vacuna tetravalente; liofilizar la vacuna tetravalente en los viales; sellar los viales con la vacuna tetravalente liofilizada; y guardar el producto liofilizado y sellado a 2-8 °C.

9. El proceso de acuerdo con la reivindicación 8, CARACTERIZADO PORQUE los parámetros usados en el proceso de liofilización son: congelamiento (entre -30 y -50 °C), vacío (entre 20 y 100 μbar), secado primario a valores de entre -30 y -50 °C (36 a 42 h) y entre -5 y -10 °C (18 a 24 h) un secado secundario a valores de entre 25 y 29 °C (8 a 15 h).

10. Una vacuna tetravalente atenuada contra el dengue, CARACTERIZADA PORQUE se produce mediante el proceso que se describe en la reivindicación 1.

11. Un proceso para preparar una vacuna tetravalente contra el dengue, CARACTERIZADO PORQUE comprende adicionalmente el paso de reconstituir la vacuna tetravalente contra el dengue sellada y liofilizada de la reivindicación 1 en una composición que comprende fosfato de sodio monobásico dihidrato 0,2 M, fosfato de sodio dibásico heptahidrato 0,2 M y agua.