

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 951 660**

51 Int. Cl.:

A61K 39/02 (2006.01)
A61K 39/10 (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01)
A61K 39/155 (2006.01)
A61K 39/175 (2006.01)
A61K 39/23 (2006.01)
A61K 39/295 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.11.2007** **E 17202017 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.06.2023** **EP 3300743**

54 Título: **Procedimientos de administración de vacunas**

30 Prioridad:

27.12.2006 US 877322 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.10.2023

73 Titular/es:

ZOETIS SERVICES LLC (100.0%)
10 Sylvan Way
Parsippany, NJ 07054, US

72 Inventor/es:

HAWORTH, JOHN DAVID y
TUCKER, CASSIUS MCALLISTER

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 951 660 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimientos de administración de vacunas

Campo de la invención

5 Esta invención se refiere a una vacuna para su uso en un procedimiento de tratamiento de un perro contra enfermedades caninas que comprende la administración al perro de cantidades terapéuticamente eficaces de vacuna, en la que la vacuna comprende antígenos víricos, y en la que la vacuna se administra por vía subcutánea u oral de acuerdo con los esquemas proporcionados en la presente memoria.

Antecedentes de la invención

10 Las vacunas contra las principales enfermedades infecciosas caninas están disponibles desde hace tres o cuatro décadas, y han reducido en gran medida la incidencia de estas enfermedades infecciosas en perros (Appel, MJ. 1999. Adv Vet Med. 41:309, 324). Pfizer Animal Health vende varias vacunas para la prevención de enfermedades asociadas a diversas enfermedades víricas y bacterianas en perros. La línea de vacunas VANGUARD®, que incluye las vacunas caninas esenciales, se utiliza para la vacunación de perros sanos de 6 semanas de edad o más como ayuda en la prevención del moquillo canino (CD) causado por el virus del moquillo canino (CD), la hepatitis infecciosa canina (ICH) causada por el adenovirus canino tipo 1 (CAV-1), la enfermedad respiratoria causada por el adenovirus canino tipo 2 (CAV-2), la parainfluenza canina (CPI) causada por el virus de la parainfluenza canina (CPI), y la enteritis parvoviral canina causada por el parvovirus canino (CPV) (Mouzin DE, et al., 2004, JAVMA, 224: 55-60).

20 La EC es una enfermedad vírica de alta morbilidad y mortalidad que se da en poblaciones caninas no vacunadas de todo el mundo. Aproximadamente el 50% de los perros no vacunados y no inmunes infectados con CDV desarrollan signos clínicos y aproximadamente el 90% de esos perros mueren (Swango LJ. 1983. Noticias Norden 58:4-10). La HIC, causada por el CAV-1, es una enfermedad vírica universal, a veces mortal, de los perros caracterizada por lesiones endoteliales hepáticas y generalizadas. La enfermedad respiratoria causada por el CAV-2, en casos graves, puede incluir neumonía y bronconeumonía. Se ha demostrado que la vacuna CAV-2 ofrece protección cruzada frente a la HIC causada por CAV-1 (Bass EP, et al., 1980, JAVMA, 177:234-242). La enfermedad de las vías respiratorias altas causada por el virus de la IPC puede ser leve o subclínica, y los signos pueden agravarse si existe una infección concurrente con otros patógenos respiratorios. La enfermedad entérica causada por el CPV se caracteriza por la aparición repentina de vómitos y diarrea, a menudo hemorrágica, y puede ir acompañada de leucopenia (Appel MJ, et al., 1979, Vet Rec, 105:156-159).

30 El documento WO 2006/038115 desvela vacunas caninas que pueden administrarse por múltiples vías, en las que las vías de administración preferentes son las administraciones subcutánea e intramuscular.

35 Las principales empresas de sanidad animal comercializan vacunas caninas básicas en su franquicia de vacunas para animales de compañía. Sin embargo, todas estas vacunas se administran por vía parenteral, especialmente las inyecciones subcutáneas. Una vacuna canina que pudiera administrarse fácilmente proporcionaría una mayor comodidad en la administración de la vacuna a la mascota, al veterinario y al propietario de la mascota, y permitiría que personal no entrenado en técnicas de administración parenteral administrara vacunas esenciales caninas a los animales.

Sumario de la invención

40 Las referencias a procedimientos de tratamiento en esta descripción deben interpretarse como referencias a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para uso en un procedimiento para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) por medio de terapia (o para diagnóstico).

La invención se refiere a

45 una vacuna para su uso en un procedimiento de vacunación de un perro contra enfermedades caninas, en el que la vacuna comprende los siguientes virus vivos modificados: 1) adenovirus canino de tipo 2 (CAV-2); 2) virus del moquillo canino (CDV); y 3) parvovirus canino (CPV); caracterizada porque la vacuna se administra por vía subcutánea u oral en una primera dosis, por vía oral en una segunda dosis administrada de 7 a 35 días inclusive después de la primera dosis, por vía oral en una tercera dosis opcional administrada de 7 a 35 días inclusive después de la segunda dosis, y por vía oral en una dosis anual, aproximadamente un año después de la primera dosis.

50 En algunas realizaciones, las dosis anuales se administran repetidamente aproximadamente un año después de la dosis anual inmediatamente anterior.

En algunas realizaciones, se administra la tercera dosis opcional.

En algunas realizaciones, la vacuna se administra por vía oral en la primera dosis.

En algunas realizaciones, el tamaño de la dosis es de 0,1 mL a 5 mL, inclusive.

En algunas realizaciones, la vacuna comprende además virus vivos modificados de la parainfluenza canina (CPI).

En algunas realizaciones,

- 5 (a) los virus vivos modificados están presentes en los siguientes intervalos de cantidades: para el virus CD, 10^2 TCID₅₀ a 10^8 TCID₅₀, inclusive; para el CAV-2, 10^2 TCID₅₀ a 10^8 TCID₅₀, inclusive; para CPV, 10^3 TCID₅₀ a 10^{10} TCID₅₀, inclusive; y, si está presente, para el virus CPI, 10^3 TCID₅₀ a 10^{10} TCID₅₀, inclusive;
- (b) los virus vivos modificados están presentes en las siguientes gamas de cantidades: para el virus CD, 10^3 TCID₅₀ a 10^6 TCID₅₀, inclusive; para CAV-2, 10^3 TCID₅₀ a 10^6 TCID₅₀, inclusive; para CPV, 10^6 TCID₅₀ a 10^9 TCID₅₀, inclusive; y, si está presente, para el virus CPI, 10^5 TCID₅₀ a 10^9 TCID₅₀, inclusive; o bien
- 10 (c) los virus vivos modificados están presentes en los siguientes intervalos de cantidades: para el virus CD, 10^4 TCID₅₀ a 10^5 TCID₅₀, inclusive; para CAV-2, 10^4 TCID₅₀ a 10^5 TCID₅₀, inclusive; para CPV, 10^7 TCID₅₀ a 10^8 TCID₅₀, inclusive; y, si está presente, para el virus CPI, 10^6 TCID₅₀ a 10^8 TCID₅₀, inclusive; además, opcionalmente, en los que

- 15 la vacuna consiste en cepas atenuadas de 10^4 TCID₅₀ a 10^5 TCID₅₀ CD virus, 10^4 TCID₅₀ a 10^5 TCID₅₀ de CAV-2 virus, 10^6 TCID₅₀ a 10^8 TCID₅₀ de CPI virus, y 10^7 TCID₅₀ a 10^8 TCID₅₀ de CPV, y en la que la vacuna se administra por vía oral en una primera dosis, por vía oral en una segunda dosis administrada 3 semanas, inclusive, después de la primera dosis, y por vía oral en una tercera dosis 3 semanas, inclusive, después de la segunda dosis.

En algunas realizaciones, la segunda dosis se administra 17-25 días después de la primera dosis.

En algunas realizaciones, la tercera dosis opcional se administra 17-25 días después de la segunda dosis.

- 20 Se proporciona en el presente documento un procedimiento de tratamiento de un perro para enfermedades caninas que comprende administrar al perro cantidades terapéuticamente eficaces de vacuna, en la que la vacuna comprende antígenos virales, una bacterina, o ambos, y en la que la vacuna se administra por vía subcutánea u oral en una primera dosis, por vía oral en una segunda dosis, por vía oral en una tercera dosis opcional, y por vía oral en una o más dosis anuales. Los antígenos víricos comprenden uno o más de los siguientes: 1) virus del moquillo canino (CD),
- 25 2) adenovirus canino de tipo 2 (CAV-2), 3) virus de la parainfluenza canina (CPI), 4) parvovirus canino (CPV), 5) y coronavirus canino (CCV), y en los que la bacterina comprende uno o más de los siguientes: *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. Pomona*, *L. bratislava*, y *Bordetella bronchiseptica*; y cualquier combinación de antígenos virales y bacterina de los mismos.

- 30 También se proporciona en el presente documento un procedimiento de tratamiento de un perro para enfermedades caninas que comprende administrar al perro cantidades terapéuticamente eficaces de vacuna, en la que la vacuna comprende antígenos virales, una bacterina, o ambos, y en la que la vacuna se administra por vía subcutánea en una primera y en una segunda dosis, y por vía oral en una tercera dosis, y por vía oral en una o más dosis anuales. Los antígenos virales comprenden uno o más de 1) virus CD, 2) CAV-2, 3) virus CPI, 4) CPV, 5) y CCV, y la bacterina comprende uno o más de *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. Pomona*, *L. bratislava*, y *Bordetella bronchiseptica*; y cualquier combinación de antígenos virales y bacterina de los mismos.
- 35

La vacuna comprende virus vivos modificados.

- En una realización, los antígenos virales son virus CD, CAV-2, virus CPI y CPV. En otra realización, estos cuatro antígenos virales se combinan con una bacterina compuesta de *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. pomona*. En otra realización, estos cuatro antígenos virales se combinan con una bacterina compuesta de *Bordetella bronchiseptica*. En otra realización, estos cuatro antígenos virales se combinan con el antígeno CCV y una bacterina compuesta de *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. pomona*.
- 40

- Las enfermedades caninas tratadas comprenden una o más de las siguientes: 1) EC causada por el virus CD; 2) hepatitis infecciosa canina causada por CAV-1; 3) enfermedad respiratoria causada por CAV-2 o CCV respiratorio; 4) CPI causada por el virus CPI; 5) enteritis causada por CCV o CPV; 6) leptospirosis causada por *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona* o *L. Bratislava*; y 7) traqueobronquitis infecciosa ("tos de las perreras") causada por *Bordetella bronchiseptica*.
- 45

- En una realización, las enfermedades tratadas comprenden 1) CD causada por el virus CD; 2) hepatitis infecciosa canina causada por CAV-1; 3) enfermedad respiratoria causada por CAV-2; 4) CPI causada por el virus CPI; 5) y enteritis parvoviral canina causada por CPV.
- 50

- En una realización, la segunda dosis se administra entre unos 7 y unos 35 días, ambos inclusive, después de la primera dosis. En una realización más específica, la segunda dosis se administra unas 3 semanas después de la primera dosis. En otra realización, la tercera dosis se administra entre 7 y 35 días, ambos inclusive, después de la segunda dosis. En una realización más específica, la tercera dosis se administra unas 3 semanas después de la segunda dosis. En otra realización, la dosis anual se administra aproximadamente un año después de la primera dosis.
- 55

En otra realización, las dosis anuales administradas después de dicha dosis anual se administran repetidamente aproximadamente un año después de la dosis anual inmediatamente anterior.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1. Respuesta serológica (SN) al CDV (títulos medios). Los animales de los grupos de tratamiento T02 y T03 recibieron las vacunas experimentales primero por vía subcutánea (el día 0) y luego la misma vacuna por vía oral tres semanas (el día 21) y seis semanas (el día 42) después. Los animales del grupo T02 recibieron una dosis relativamente baja, y los del grupo T03, una dosis relativamente alta. Se tomaron muestras de sangre semanalmente para medir las concentraciones (p. ej., títulos) de CDV.

Figura 2. Respuesta serológica (SN) al CPV (títulos medios). Los animales fueron tratados como se describe para la Figura 1. Se tomaron muestras de sangre semanalmente para medir las concentraciones (p. ej., títulos) de CPV.

Figura 3. Respuesta serológica (SN) al CAV-1 (títulos medios). Los animales fueron tratados como se describe para la Figura 1. Se tomaron muestras de sangre semanalmente para medir las concentraciones (p. ej., títulos) de CAV-1.

Descripción detallada de la invención

Definiciones y abreviaturas

"Alrededor de" o "aproximadamente", cuando se usa en relación con una variable numérica medible, se refiere al valor indicado de la variable y a todos los valores de la variable que están dentro del error experimental del valor indicado (por ejemplo, dentro del 95% intervalo de confianza para la media) o dentro del 10 por ciento del valor indicado, el que sea mayor, a menos que se use aproximadamente en referencia a intervalos de tiempo en semanas en los que "alrededor de 3 semanas" es de 17 a 25 días, y de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 semanas. es de 10 a 40 días.

Por "adyuvante" se entiende una sustancia o composición farmacéuticamente aceptable que aumenta la respuesta inmunitaria a un antígeno.

"Anticuerpo" se refiere a una molécula de inmunoglobulina que puede unirse a un antígeno específico como resultado de una respuesta inmunitaria a ese antígeno. Las inmunoglobulinas son proteínas séricas compuestas por cadenas polipeptídicas "ligeras" y "pesadas", que tienen regiones "constantes" y "variables", y se dividen en clases (por ejemplo, IgA, IgD, IgE, IgG e IgM) según la composición de las regiones constantes.

"Antígeno" o "inmunógeno", como se utiliza en la presente memoria, significa una molécula que contiene uno o más epítomos (lineales, conformacionales o ambos), que al ser expuesta a un individuo, inducirá una respuesta inmune que es específica para ese antígeno. Un epítopo es el sitio específico del antígeno que se une a un receptor de células T o a un anticuerpo específico, y suele comprender de aproximadamente 3 a aproximadamente 20 residuos de aminoácidos. El término antígeno se refiere a bacterias o virus muertos, atenuados o inactivados. El término "antígeno" también se refiere a los anticuerpos, como los anticuerpos antiidiotipo o sus fragmentos, y a los mimotopos peptídicos sintéticos que pueden imitar un antígeno o un determinante antigénico (epítopo).

"Excipiente" se refiere a cualquier componente de una vacuna que no sea un antígeno.

"Dosis" se refiere a una vacuna o composición inmunogénica administrada a un individuo. Una "primera dosis" o "vacuna de cebado" se refiere a la dosis de dicha composición administrada el Día 0. Una "segunda dosis" o una "tercera dosis" o una "dosis anual" se refiere a una cantidad de dicha composición administrada con posterioridad a la primera dosis, que puede ser o no la misma vacuna o composición inmunogénica que la primera dosis.

"Respuesta inmunitaria" en un individuo se refiere al desarrollo de una respuesta inmunitaria humoral, una respuesta inmunitaria celular o una respuesta inmunitaria humoral y celular a un antígeno. La "respuesta inmune humoral" se refiere a la que está mediada por anticuerpos. Una "respuesta inmunitaria celular" es una mediada por linfocitos T u otros glóbulos blancos o ambos, e incluye la producción de citoquinas, quimiocinas y moléculas similares producidas por células T activadas, glóbulos blancos o ambos. Las respuestas inmunitarias pueden determinarse normalmente mediante el uso de inmunoensayos y ensayos de neutralización estándar, conocidos en la técnica.

"Cantidad inmunológicamente protectora" o "cantidad inmunológicamente eficaz" de un antígeno es una cantidad eficaz para inducir una respuesta inmunógena en el receptor. La respuesta inmunogénica puede ser suficiente para fines de diagnóstico u otras pruebas, o puede ser adecuada para prevenir los signos o síntomas de la enfermedad, incluidos los efectos adversos para la salud o sus complicaciones, causados por la infección con un agente patógeno. Se puede inducir inmunidad humoral, inmunidad celular o ambas. La respuesta inmunogénica de un animal a una composición inmunogénica puede evaluarse, por ejemplo, indirectamente a través de la medición de los títulos de anticuerpos, ensayos de proliferación de linfocitos, o directamente a través de la supervisión de los signos y síntomas después del desafío con la cepa de tipo salvaje, mientras que la inmunidad protectora conferida por una vacuna puede evaluarse midiendo, por ejemplo, la reducción de los signos clínicos como la mortalidad, la morbilidad, el número de temperatura, la condición física general, y la salud y el rendimiento general del sujeto. La respuesta inmunitaria puede comprender, sin limitación, la inducción de la inmunidad celular y/o humoral.

"Inmunogénico" significa que evoca una respuesta inmunitaria o antigénica. Por lo tanto, una composición inmunogénica sería cualquier composición que induzca una respuesta inmunitaria.

"Intranasal" significa dentro de la nariz. De este modo, la administración intranasal se refiere a la introducción de una sustancia, tal como una vacuna, en el cuerpo de un individuo a través o por vía nasal, como ocurriría, por ejemplo, al colocar una o más gotitas en la nariz. Implica el transporte de la sustancia principalmente a través de la mucosa nasal y nasofaríngea.

"N días", "N" intervalo o periodo de tiempo, o "M días" tras un suceso se refiere, respectivamente, a cualquier momento del día N o M tras el suceso. Por ejemplo, vacunar a un individuo con una segunda vacuna 21 días después de la administración de una primera vacuna significa que la segunda vacuna se administra en cualquier momento del día 21 después de la primera vacuna. Esta descripción se aplica a menudo al intervalo entre una primera y una segunda vacunación, o entre una segunda y una tercera vacunación.

Las composiciones inmunogénicas eficaces de la presente invención también pueden administrarse por vía oral o peroral, es decir, en el cuerpo de un individuo a través de la boca o por medio de ella, e implica la deglución o el transporte a través de la mucosa oral (por ejemplo, absorción sublingual o bucal, o ambas).

La administración "oronasal" se refiere a la introducción de una sustancia, tal como una vacuna, en el cuerpo de un individuo a través o por medio de la nariz y la boca, como ocurriría, por ejemplo, al colocar una o más gotas en la nariz. La administración oronasal implica procesos de transporte asociados a la administración oral e intranasal.

La "administración parenteral" se refiere a la introducción de una sustancia, tal como una vacuna, en el cuerpo de un sujeto a través o por medio de una vía que no incluye el tracto digestivo. La administración parenteral incluye la administración subcutánea, la administración intramuscular, la administración transcutánea, la administración intradérmica, la administración intraperitoneal, la administración intraocular y la administración intravenosa. A efectos de la presente divulgación, la administración parenteral excluye las vías de administración que implican principalmente el transporte de la sustancia a través del tejido mucoso de la boca, la nariz, la tráquea y los pulmones.

El término "farmacéuticamente aceptable", se refiere a las sustancias que son, dentro del ámbito del buen juicio médico, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de los individuos, sin toxicidad indebida, irritación, respuesta alérgica, y similares, proporcionales a una relación razonable entre beneficio y riesgo, y eficaces para su uso previsto.

"Individuo" se refiere a un canino.

"TCID₅₀" se refiere a la "dosis infectiva de cultivo de tejidos" y se define como la dilución de un virus necesaria para infectar el 50% de un lote determinado de cultivos celulares inoculados. Se pueden utilizar varios procedimientos para un experto en la técnica para calcular la TCID₅₀, incluido el procedimiento de Spearman-Kärber que se utiliza en esta especificación. Para una descripción del procedimiento Spearman-Kärber, véase B. W. Mahy & H. O. Kangro, Virology Methods Manual 25-46 (1996).

"Cantidad terapéuticamente eficaz", en el contexto de esta divulgación, se refiere a una cantidad de un antígeno o vacuna que induciría una respuesta inmunitaria en un individuo que recibe el antígeno o la vacuna que es adecuada para prevenir o reducir los signos o síntomas de la enfermedad, incluidos los efectos adversos para la salud o las complicaciones de la misma, causados por la infección con un patógeno, tal como un virus o una bacteria. Se puede inducir inmunidad humoral, inmunidad celular o ambas. La respuesta inmunogénica de un animal a una vacuna puede ser evaluada, por ejemplo, indirectamente a través de la medición de los títulos de anticuerpos, ensayos de proliferación de linfocitos, o directamente a través del seguimiento de los signos y síntomas tras el desafío con la cepa de tipo salvaje. La inmunidad protectora conferida por una vacuna puede evaluarse midiendo, por ejemplo, la reducción de los signos clínicos como la mortalidad, la morbilidad, el número de temperatura, la condición física general y la salud y el rendimiento generales del sujeto. La cantidad de una vacuna que es terapéuticamente efectiva puede variar dependiendo del virus, o la condición del individuo, y puede ser determinada por un médico veterinario.

"Tratar" se refiere a prevenir un trastorno, afección o enfermedad a la que se aplica dicho término; o a prevenir uno o más síntomas de dicho trastorno, afección o enfermedad; o a revertir, aliviar o inhibir el progreso de dicho trastorno, afección o enfermedad.

"Tratamiento" se refiere al acto de "tratar" tal como se ha definido anteriormente.

"Vacuna" se refiere a una composición que incluye un antígeno, tal como se define en el presente documento. La administración de la vacuna a un individuo produce una respuesta inmunitaria, generalmente contra una o varias enfermedades específicas. La cantidad de una vacuna que es terapéuticamente efectiva puede variar según el virus particular utilizado o la condición del perro, y puede ser determinada por un médico veterinario. La vacuna puede introducirse directamente en el individuo por las vías de administración subcutánea, oral, oronasal o intranasal.

"VANGUARD® Plus 5" es una vacuna comercial que contiene el virus del moquillo canino (CD), el adenovirus canino tipo 2 (CAV-2), el virus de la parainfluenza canina (CPI) y el parvovirus canino (CPV). "VANGUARD® Plus 5 L4" es una

vacuna comercializada que contiene virus CD, CAV-2, virus CPI, CPV y *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. pomona*. "VANGUARD® Plus 5 L4 CV" es una vacuna comercializada que contiene virus CD, CAV-2, virus CPI, CPV, coronavirus canino (CCV) y *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. pomona*. El nombre VANGUARD® está registrado y es propiedad de Pfizer, Inc.

5 Descripción de la invención

En la presente memoria se proporciona un régimen de vacunación que reduce la morbilidad y mortalidad en animales, y proporciona una mayor facilidad de administración de vacunas para mascotas, veterinarios y propietarios de animales. Es muy conveniente administrar las vacunas con procedimientos que no requieran inyecciones cuando los animales son mayores. Además, las vacunas orales tienen probablemente menos probabilidades de inducir efectos secundarios indeseables que pueden observarse tras las vacunaciones parenterales. Las vacunas orales pueden ser administradas por personas sin formación en la administración de materiales por vía parenteral (es decir, por medio de aguja y jeringuilla), para de este modo aumentar la frecuencia probable de vacunación y la protección frente a la enfermedad.

En el presente documento se describen procedimientos de vacunación de un perro con una vacuna o composición inmunogénica como ayuda en la prevención o tratamiento de enfermedades causadas por cepas virulentas víricas o bacterianas, que incluyen pero no se limitan a 1) moquillo canino (CD) causado por el virus del moquillo canino (CD); 2) hepatitis infecciosa canina (ICH) causada por el adenovirus canino tipo 1 (CAV-1); 3) enfermedad respiratoria causada por el adenovirus canino tipo 2 (CAV-2); 4) parainfluenza canina causada por el virus de la parainfluenza canina (CPI), y 5) enteritis parvovírica canina causada por el parvovirus canino (CPV). Otras enfermedades caninas como se indica a continuación también pueden ser tratadas por esta invención.

Los procedimientos comprenden administrar al perro cantidades terapéuticamente eficaces de una primera dosis, una segunda dosis y, opcionalmente, una tercera dosis de una composición capaz de inducir una respuesta inmunitaria en el individuo. También se administra aproximadamente un año después de la primera dosis como refuerzo anual. La primera dosis puede administrarse por vía subcutánea u oral. La segunda dosis se administra por vía oral unos N días después de la administración de la primera vacuna. En la presente memoria, N es un número entero de aproximadamente 7 a aproximadamente 35, inclusive, pero típicamente es un número entero de aproximadamente 14 a aproximadamente 28, inclusive. El intervalo entre la primera y la segunda dosis también puede ser de unas 2 a unas 4 semanas, aunque el intervalo preferente es de unas 3 semanas.

Los procedimientos también incluyen una tercera dosis opcional administrada por vía oral M días después de la administración de la segunda dosis. En la presente memoria, M es un número entero de aproximadamente 7 a aproximadamente 35, inclusive, pero típicamente es un número entero de aproximadamente 14 a aproximadamente 28, inclusive. El intervalo entre la segunda y la tercera dosis también puede ser de unas 2 a unas 4 semanas, aunque el intervalo preferente es de unas 3 semanas. De este modo, a partir del Día 0 (día de administración de la primera dosis) M sería un número entero comprendido entre aproximadamente 28 y aproximadamente 56, ambos inclusive, pero típicamente es un número entero comprendido entre aproximadamente 35 y aproximadamente 49, ambos inclusive. El intervalo entre la primera y la tercera dosis también puede ser de unas 5 a unas 7 semanas, aunque el intervalo preferente es de unas 6 semanas.

Los procedimientos también incluyen una administración oral anual de una vacuna administrada aproximadamente un año después de la administración de la primera vacuna. Generalmente, esta dosis se administra desde unas cuatro semanas antes hasta unas cuatro semanas después del primer aniversario de la primera vacuna. El veterinario determinará la necesidad y la frecuencia de las vacunas de refuerzo posteriores en función del estilo de vida del animal y del riesgo de exposición.

Los procedimientos pueden emplear cualquier vacuna que sea capaz de inducir una respuesta inmunitaria en un perro. Las vías de administración de las vacunas son subcutánea y oral. La primera vacuna está adaptada para ser administrada por vía oral o subcutánea. La segunda, tercera y anual dosis están adaptadas para ser administradas por vía oral. Se puede utilizar cualquier dispositivo adecuado para administrar las vacunas, incluidas jeringas, cuentagotas, dispositivos de inyección sin aguja y similares. Para la administración oral, se puede utilizar una jeringa provista de una cánula para colocar una dosis de la vacuna en la boca del perro.

Además del esquema de administración anterior, los procedimientos también abarcan un esquema de administración en el que una primera dosis se administra por vía subcutánea. Se administra una segunda dosis por vía subcutánea unos N días después de la administración de la primera vacuna. En la presente memoria, N es un número entero de aproximadamente 7 a aproximadamente 35, inclusive, pero típicamente es un número entero de aproximadamente 14 a aproximadamente 28, inclusive. El intervalo entre la primera y la segunda dosis también puede ser de unas 2 a unas 4 semanas, aunque el intervalo preferente es de unas 3 semanas. Una tercera dosis se administra por vía oral M días después de la administración de la segunda dosis. En la presente memoria, M es un número entero de aproximadamente 7 a aproximadamente 35, inclusive, pero típicamente es un número entero de aproximadamente 14 a aproximadamente 28, inclusive. El intervalo entre la segunda y la tercera dosis también puede ser de unas 2 a unas 4 semanas, aunque el intervalo preferente es de unas 3 semanas. La administración oral anual de una vacuna se realiza aproximadamente un año después de la administración de la primera vacuna. Generalmente, esta dosis se

administra desde unas cuatro semanas antes hasta unas cuatro semanas después del primer aniversario de la primera vacuna. El veterinario determinará la necesidad y la frecuencia de las vacunas de refuerzo posteriores en función del estilo de vida del animal y del riesgo de exposición. Para este esquema de administración, la primera y la segunda dosis están adaptadas para ser administradas por vía subcutánea. La tercera dosis y la dosis anual están adaptadas para ser administradas por vía oral.

La primera, segunda, tercera y anual dosis pueden ser la misma o diferentes vacunas o composición inmunogénica y cada una comprende, independientemente, uno o más antígenos. Entre las vacunas útiles se encuentran las vacunas de virus vivos modificados. Las vacunas vivas y vivas modificadas contienen cepas que no causan enfermedad en los perros y han sido aisladas en forma no virulenta o han sido atenuadas mediante el uso de procedimientos bien conocidos en la técnica, incluido el pasaje en serie en una línea celular adecuada o la exposición a la luz ultravioleta o a un mutágeno químico.

Las vacunas pueden contener antígenos para inmunizar a los perros con el fin de protegerlos contra enfermedades o tratarlas, incluidas, entre otras, 1) moquillo canino causado por el virus del moquillo canino; 2) hepatitis infecciosa canina causada por el adenovirus canino tipo 1; 3) enfermedad respiratoria causada por el adenovirus canino de tipo 2 o el coronavirus respiratorio canino; 4) parainfluenza canina causada por el virus de la parainfluenza canina; 5) enteritis causada por el coronavirus canino o el parvovirus canino; 6) leptospirosis causada por *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona* o *L. Bratislava*; y 7) traqueobronquitis infecciosa ("tos de las perreras") causada por *Bordetella bronchiseptica*. Ejemplos de vacunas adecuadas incluyen las de la línea de productos VANGUARD®, incluyendo pero no limitándose a VANGUARD® Plus 5, VANGUARD® Plus 5 L4 y VANGUARD® Plus 5 L4 CV. Una vacuna puede combinarse con otras para producir un producto vacunal polivalente que pueda proteger a los perros contra una amplia variedad de enfermedades causadas por otros patógenos. En la actualidad, los fabricantes comerciales de vacunas caninas, así como los usuarios finales, prefieren los productos vacunales polivalentes.

Para las vacunas que contienen virus vivos modificados o virus atenuados, una dosis terapéuticamente eficaz generalmente oscila entre aproximadamente 10^2 DICT₅₀ y aproximadamente 10^{10} DICT₅₀, inclusive. Para virus específicos, una dosis terapéuticamente eficaz se encuentra generalmente en los siguientes intervalos: para el virus CD, de aproximadamente 10^2 DICT₅₀ a aproximadamente 10^8 DICT₅₀, inclusive; o de aproximadamente 10^3 DICT₅₀ a aproximadamente 10^6 DICT₅₀, inclusive; o de aproximadamente 10^4 DICT₅₀ a aproximadamente 10^5 DICT₅₀, inclusive; para el CAV-2, de aproximadamente 10^2 DICT₅₀ a aproximadamente 10^8 DICT₅₀, inclusive; o de aproximadamente 10^3 DICT₅₀ a aproximadamente 10^6 DICT₅₀, inclusive; o de aproximadamente 10^4 DICT₅₀ a aproximadamente 10^5 DICT₅₀, inclusive; para el CPV, desde aproximadamente 10^3 DICT₅₀ hasta aproximadamente 10^{10} DICT₅₀, inclusive; o desde aproximadamente 10^6 DICT₅₀ hasta aproximadamente 10^9 DICT₅₀, inclusive; o desde aproximadamente 10^7 DICT₅₀ hasta aproximadamente 10^8 DICT₅₀, inclusive; y para el virus CPI, desde aproximadamente 10^3 DICT₅₀ hasta aproximadamente 10^{10} DICT₅₀, inclusive; o desde aproximadamente 10^5 DICT₅₀ hasta aproximadamente 10^9 DICT₅₀, inclusive; o desde 10^6 DICT₅₀ hasta aproximadamente 10^8 DICT₅₀, inclusive. La cantidad de CCV en una preparación vírica inactivada debe ser de al menos unas 100 unidades relativas por dosis, y preferentemente en el intervalo de unas 1.000 a unas 4.500 unidades relativas por dosis.

Para las vacunas que contienen una bacterina, una dosis terapéuticamente eficaz para cada especie Leptospiral en la vacuna generalmente está en el intervalo de aproximadamente 100 unidades nefelométricas (NU) a aproximadamente 3.500 NU por dosis de vacuna, y preferentemente en el intervalo de aproximadamente 200 NU a aproximadamente 2.000 NU por dosis. Una dosis terapéuticamente eficaz de *Bordetella bronchiseptica* en la vacuna suele estar comprendida entre 3×10^6 y 3×10^{11} células aproximadamente, o entre 3×10^7 y 3×10^{10} células aproximadamente, o entre 3×10^8 y 3×10^9 células aproximadamente.

Otros componentes de las vacunas pueden incluir excipientes farmacéuticamente aceptables, incluidos portadores, disolventes y diluyentes, agentes isotónicos, agentes tamponadores, estabilizadores, conservantes, agentes inmunomoduladores (por ejemplo, interleucinas, interferones y otras citoquinas), agentes vaso-constrictores, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos y similares. Los portadores, disolventes y diluyentes típicos incluyen agua, solución salina, dextrosa, etanol, glicerol y similares. Los agentes isotónicos representativos incluyen cloruro sódico, dextrosa, manitol, sorbitol, lactosa y similares. Entre los estabilizadores útiles se encuentran la gelatina, la albúmina y similares.

Los portadores aceptables para uso veterinario también pueden incluir todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, adyuvantes, agentes estabilizadores, diluyentes, conservantes, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos, agentes retardadores de la adsorción y similares. El portador o portadores deben ser "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los componentes de la invención y no nocivos para el individuo a inmunizar. Normalmente, los portadores serán estériles y libres de pirógenos, y se seleccionarán en función del modo de administración que se vaya a utilizar. Es bien sabido por los expertos en la técnica que las formulaciones preferentes para el portador farmacéuticamente aceptado que comprenden las vacunas son aquellos portadores farmacéuticos aprobados en la normativa aplicable promulgada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (EE.UU.), o agencia gubernamental equivalente en un país no estadounidense. Por lo tanto, el portador farmacéuticamente aceptado para la producción comercial de las vacunas es un portador que ya está aprobado o que será aprobado por la agencia gubernamental apropiada en los EE.UU. o en un país extranjero.

Opcionalmente, las composiciones vacunales pueden incluir diluyentes líquidos, semisólidos o sólidos compatibles con la vacuna y farmacéuticamente aceptables(es *decir*, estériles y no tóxicos) que sirven como portadores, excipientes o medios farmacéuticos. Los diluyentes pueden incluir agua, solución salina, dextrosa, etanol, glicerol y similares. Los agentes isotónicos pueden incluir cloruro de sodio, dextrosa, manitol, sorbitol y lactosa, entre otros. Los estabilizadores incluyen, entre otros, la albúmina.

Las vacunas pueden mezclarse además con uno o más adyuvantes farmacéuticamente aceptables. Muchos de estos adyuvantes son conocidos en la técnica. Los adyuvantes representativos incluyen adyuvantes a base de aceite, tales como el adyuvante completo de Freund y el adyuvante incompleto de Freund, adyuvantes a base de micolato (por ejemplo, dimicolato de trehalosa), lipopolisacáridos bacterianos, peptidoglicanos (es decir, mureínas, mucopéptidos o glicoproteínas como N-Opaca, muramil dipéptido o análogos de los mismos), proteoglicanos (por ejemplo, extraídos de *Klebsiella pneumoniae*), preparados estreptocócicos (por ejemplo, OK432), BIOSTIM® (por ejemplo, 01K2), Iscoms (por ejemplo, véase la solicitud de patente europea Nos. EP 109942, EP 180564 y EP 231039), hidróxido de aluminio, saponina, dietilaminoetil (DEAE)-dextrano, aceites neutros (por ejemplo, miglyol), aceites vegetales (por ejemplo, aceite de arachis), liposomas, polioles PLURONIC®. Los adyuvantes incluyen, pero sin limitación, el sistema de adyuvantes RIBI (Ribi Inc.; Hamilton, MT), alumbre, gel de hidróxido de aluminio, emulsiones de aceite en agua, emulsiones de agua en aceite tal como, por ejemplo, Adyuvantes completos e incompletos de Freund, copolímero Block (CytRx; Atlanta, GA), SAF-M (Chiron; Emeryville, CA), adyuvante AMPHIGEN®, saponina, Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc.; Cambridge, MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc.; Birmingham, AL) u otras fracciones de saponina, lípido monofosforilo A, adyuvante lipídico-amínico Avridine, enterotoxina termolábil de *Escherichia coli* (recombinante o no), toxina del cólera o toxina de la tos ferina.

Las composiciones inmunogénicas pueden incluir además uno o más agentes inmunomoduladores tales como, por ejemplo, interleucinas, interferones u otras citoquinas. Las composiciones inmunogénicas pueden también antibióticos, incluidos gentamicina y Merthiolate.

El tamaño de las dosis de las vacunas suele oscilar entre un décimo de mL y cinco mL, ambos inclusive. Normalmente, se utiliza una dosis de aproximadamente un ml para las vacunas orales. Cada dosis contiene una cantidad terapéuticamente eficaz del antígeno o antígenos que puede variar en función de la edad y el estado general del perro, la vía de administración, la naturaleza del antígeno y otros factores. Las cantidades y concentraciones de los demás componentes de las vacunas pueden ajustarse para modificar las propiedades físicas y químicas de las vacunas, y el experto en la técnica puede determinarlas fácilmente. Por ejemplo, los adyuvantes comprenden típicamente de unos 25 µg a unos 1000 µg, inclusive, de una dosis de un ml. Del mismo modo, los antibióticos comprenden típicamente desde aproximadamente un µg hasta aproximadamente 60 µg, inclusive, de una dosis de un ml.

Un experto en la técnica puede formular fácilmente una vacuna. Las vacunas se suministran estériles y sin pirógenos. Las composiciones inmunogénicas se pueden preparar en diversas formas dependiendo de la vía de administración, los requisitos de almacenamiento y similares. Por ejemplo, las composiciones inmunogénicas pueden ser preparadas en forma de soluciones o dispersiones acuosas estériles adecuadas para uso inyectable, o ser preparadas en formas liofilizadas utilizando técnicas de liofilización. Las composiciones liofilizadas pueden reconstituirse antes de su uso en una solución estabilizadora, por ejemplo, solución salina o HEPES.

Los individuos adecuados para la vacunación incluirían perros de unas cuatro semanas de edad o más. De este modo, la primera dosis se administraría a un perro de unas cuatro semanas de edad, seguida de dosis posteriores de acuerdo con el calendario indicado en la presente memoria. Algunas vacunas preparadas comercialmente proporcionan instrucciones sobre el momento de administración y el número de dosis basadas en la posibilidad de interferencia de anticuerpos maternos. Por ejemplo, la etiqueta del producto VANGUARD® Plus 5 L4 (Pfizer Inc) indica que a los perros que reciban la primera vacuna con menos de 9 semanas de edad se les debe administrar una tercera dosis de un ml por vía oral unas tres semanas después de la segunda dosis.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos pretenden ser ilustrativos y no limitativos, y representan algunas realizaciones específicas de la presente invención.

Ejemplo 1. En este estudio se evaluó la capacidad de una vacuna viva modificada para provocar seroconversión (por ejemplo, pasar de un estado de ausencia de anticuerpos a un estado de concentraciones relativamente altas de anticuerpos frente a antígenos específicos) cuando se administraba una vacuna por vía subcutánea en una primera dosis y, a continuación, por vía oral en una segunda y tercera dosis.

Los antígenos de interés son el Adenovirus Canino - Tipo 1 (CAV-1), el Parvovirus Canino (CPV) y el Virus del Moquillo Canino (CDV). Treinta y tres cachorros de entre 6 y 9 semanas de edad al inicio del estudio que no presentaban anticuerpos frente a CAV-1, CPV o CDV se dividieron aleatoriamente en tres grupos de tratamiento de 11 perros cada uno. Los perros del grupo de tratamiento T01 recibieron la vacuna placebo tres veces, con un intervalo de tres semanas. Este grupo de tratamiento se incluyó para garantizar que los animales no estuvieran expuestos a los virus de interés de ninguna manera, excepto a través de la vacunación experimental. Los animales de los grupos de tratamiento T02 y T03 recibieron las vacunas experimentales primero por vía subcutánea (el día 0) y luego la misma

vacuna por vía oral tres semanas (el día 21) y seis semanas (el día 42) después. La única diferencia entre T02 y T03 fue la cantidad de virus en las vacunas administradas, dado que T02 recibió una dosis relativamente baja y T03 una dosis relativamente alta. Se tomaron muestras de sangre semanalmente para medir las concentraciones (p. ej., títulos) de anticuerpos específicos. Las muestras de suero se analizaron para detectar anticuerpos séricos contra CDV, CPV y CAV1 de acuerdo con los procedimientos estándar. En las Tablas 1 y 2 se presentan detalles del diseño experimental y del Producto Veterinario en Investigación (PIV).

Tabla 1. Diseño experimental

Grupo	N	Vacunación			Colección Serum
		Día 0	Día 21	Día 42	
T01 Control Negativo	11	SQ salino	Solución salina oral	Solución salina oral	Días 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 y 63
T02	11	Título "bajo" de SQ	Título oral "bajo"	Título oral "bajo"	
T03	11	Título "alto" de SQ	Título oral "alto"	Título oral "alto"	
SQ = subcutáneo					

Tabla 2. Producto Veterinario en Investigación (PIV)

IVP	Vacuna de serie	Títulos virales de entrada aproximados por dosis (log)	Número de dosis	Volumen por dosis
CDV-CAV ₂ -CPV-CPI a título bajo	L031006C (diluido 100X)	CDV: 2,7	T01 = 0	Apróx. 1 ml
		CAV ₂ : 2,2	T02 = 33	
		CPV: 6,0	T03 = 0	
		IPC: 5,9	Total = 33	
CDV-CAV ₂ -CPV-CPI a un título relativamente alto	L031006C	CDV: 4,7	T01 = 0	Apróx. 1 ml
		CAV ₂ : 4,2	T02 = 0	
		CPV: 8,0	T03 = 33	
		IPC: 7,9	Total = 33	

Todos los animales en T01 permanecieron esencialmente libres de anticuerpos a los antígenos de interés, lo que indica que no hubo exposición ambiental a estos virus. Los animales de T02 y T03 respondieron de forma similar a las vacunas, lo que indica que la dosis no influyó significativamente en los patrones de respuesta. Independientemente del antígeno, los animales a los que se administró la vacuna experimental (grupos T02 y T03) respondieron sólidamente a la primera dosis de vacuna (administrada por vía subcutánea). A efectos comparativos y de perspectiva, se considera que los animales están protegidos de la enfermedad cuando presentan títulos de anticuerpos superiores o iguales a 1:16 para el CAV-1, 1:32 para el CDV y 1:80 para el CPV.

Los anticuerpos CDV-específicos alcanzaron su máximo a los 28 días de la primera vacunación, con títulos medios de 1:3499 y 1:3668 para T02 y T03 respectivamente (ver Figura 1). En el caso de los títulos específicos del CDV tras la vacunación subcutánea, esta concentración de anticuerpos puede haber sido lo suficientemente alta como para interferir con la capacidad de los animales de reaccionar posteriormente a las vacunas administradas por vía oral. Los anticuerpos específicos contra CPV siguieron un patrón similar, aunque los títulos máximos de anticuerpos se produjeron dos semanas después de la 1ª vacunación oral (título medio de 1:5702 en el día 36) para los perros en T02, y una semana después de la 1ª vacunación oral (título medio de 1:5613 en el día 28) para los perros en T03 (ver Figura 2).

Debido a las diferencias en el tiempo entre las concentraciones máximas de anticuerpos contra CDV y CPV, este patrón podría interpretarse como una respuesta inmune a la vacunación oral, aunque los altos títulos iniciales de anticuerpos nuevamente dificultan la interpretación. Sin embargo, los anticuerpos específicos contra CAV-1 indican claramente que existe una respuesta inmunitaria robusta a la dosificación oral de este antígeno (véase la Figura 3). El

día de la primera vacunación oral, el día 21, los animales de T02 tenían títulos medios de anticuerpos específicos contra CAV-1 de 1:5, y los de T03 tenían títulos medios de 1:16. Dos semanas después, los perros tenían títulos medios de anticuerpos de 1:25 y 1:118 en los grupos T02 y T03, respectivamente. Aún más notable, dos semanas después de la 2ª vacuna administrada por vía oral, en el día 56, los animales tenían títulos medios de 1:83 y 1:150 en T02 y T03 respectivamente. Tradicionalmente, los títulos de anticuerpos contra el CAV-1 son más bajos que los de los otros dos antígenos, lo que puede haber disminuido la probabilidad de interferencias causadas por la vacunación subcutánea.

Aunque los títulos elevados de anticuerpos específicos para CDV y CPV tras una vacunación subcutánea dificultan la interpretación clara de la eficacia de la dosificación oral para CDV y CPV, la conclusión de este estudio es que los perros son capaces de seroconversión en respuesta a la vacunación subcutánea seguida de vacunación oral. Una conclusión secundaria es que la vacunación oral es una vía de administración de vacunas práctica y potencialmente eficaz para los perros.

Ejemplo 2. En este estudio se evaluó la capacidad de una vacuna viva modificada para provocar seroconversión (por ejemplo, pasar de un estado de ausencia de anticuerpos a un estado de concentraciones relativamente altas de anticuerpos frente a antígenos específicos) cuando se administraba una vacuna por vía subcutánea u oral en una primera dosis, y luego por vía oral en una segunda y tercera dosis.

Treinta y nueve cachorros, con edades comprendidas entre las 6 y las 10 semanas al inicio del estudio, y sin anticuerpos contra el Adenovirus Canino - Tipo 1 (CAV-1), Parvovirus Canino (CPV), Virus del Moquillo Canino (CDV), o Parainfluenza Canina (CPI), fueron divididos aleatoriamente en tres grupos de tratamiento de 13 perros cada uno. A los perros del grupo de tratamiento T01 se les administró por vía oral la vacuna placebo tres veces, con tres semanas de intervalo. Este grupo de tratamiento se incluyó para garantizar que los animales no estuvieran expuestos a los virus de interés de ninguna otra forma que no fuera la vacunación experimental. A los animales del grupo de tratamiento T02 se les administró por vía oral la misma vacuna experimental los días 0, 21 y 42. A los animales del grupo de tratamiento T03 se les administró la vacuna experimental por vía subcutánea el día 0 y, a continuación, la misma vacuna por vía oral tres semanas (día 21) y seis semanas (día 42) después. La única diferencia entre T02 y T03 fue que T02 recibió la primera dosis por vía oral y T03 recibió la primera dosis por vía subcutánea. Se tomaron muestras de sangre semanalmente para medir las concentraciones (p. ej., títulos) de anticuerpos específicos. Las muestras de suero se analizaron para detectar anticuerpos séricos contra CDV, CPV y CAV-1 de acuerdo con procedimientos estándar. (Los animales vacunados con CAV-2 generan anticuerpos reactivos cruzados con CAV-1) Los animales se consideraron respondedores positivos (es decir, protegidos de la enfermedad) si tenían títulos de anticuerpos superiores o iguales a 1:16 para CAV-1, 1:32 para CDV y 1:16 para CPV. En las Tablas 3 y 4 se presentan detalles del diseño experimental y del Producto Veterinario en Investigación (PIV).

Tabla 3. Diseño experimental

Grupo	N	Vacunación			Colección Serum
		Día 0	Día 21	Día 42	
T01 Control Negativo	13	Portador oral	Portador oral	Portador oral	Días 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 y 63
T02	13	PIV oral	PIV oral	PIV oral	
T03	13	SQ IVP	PIV oral	PIV oral	
SQ = subcutánea IVP = Producto Veterinario en Investigación					

Tabla 4. Producto Veterinario en Investigación (PIV)

IVP	Vacuna de serie	Títulos virales de entrada aproximados por dosis (log)	Número de dosis	Volumen por dosis
CDV-CAV ₂ -CPV-CPI a título elevado	L25Aug06C más CDV preparación #71802	CDV: 3,5	T01 = 0	Apróx. 1 ml
		CAV ₂ : 4,0	T02 = 39	
		CPV: 7,1	T03 = 39	
		IPC: 5,2	Total = 78	

Como se presenta en la Tabla 5, todos los animales del grupo T03 (SQ, oral, oral) seroconvirtieron contra los tres virus medidos para el Día 63. Todos los animales del grupo T02 (oral, oral, oral) seroconvirtieron frente a CPV y CAV-1 en el día 63. Aproximadamente la mitad de los animales del grupo T02 seroconvirtieron al CDV en el día 63, lo que sugiere que es posible introducir cambios en la formulación actual. De este modo, estos resultados demuestran que la dosificación oral es un enfoque eficaz de la vacunación.

Tabla 5. Resultados de la seroconversión

Resultados de la seroconversión		Día de estudio		
		21	42	63
CPV	T01	0/13	0/13	0/13
	T02	7/13	10/13	13/13
	T03	13/13	13/13	13/13
CDV	T01	0/13	0/13	0/13
	T02	5/13	6/13	6/13
	T03	13/13	13/13	13/13
CAV1	T01	5/13	11/13	10/13
	T02	12/13	13/13	13/13
	T03	6/13	13/13	13/13

Ejemplo 3. Este ejemplo teórico describe la administración a perros de una Vacuna de virus vivo modificado contra el moquillo-denovirus tipo 2-parainfluenza-parvovirus canino. Una preparación liofilizada de la vacuna se rehidrata asépticamente con diluyente estéril y se agita bien, de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta. Un ejemplo de este tipo de vacuna es VANGUARD® Plus 5 (Pfizer Inc). Esta vacuna contiene cepas atenuadas del virus CD (aproximadamente 10^5 DICT₅₀), CAV-2 (aproximadamente 10^4 DICT₅₀), virus CPI (aproximadamente 10^8 DICT₅₀) y CPV (aproximadamente 10^8 DICT₅₀) propagadas en una línea celular canina establecida.

A los perros sanos de 4 semanas de edad o más se les administra una primera dosis de 1 ml de la vacuna reconstituida por vía oral o subcutánea. Los perros reciben por vía oral una segunda dosis de 1 ml unas tres semanas después de la primera vacuna, seguida de una tercera dosis de 1 ml administrada por vía oral unas tres semanas después de la segunda dosis. Los perros reciben una vacuna de refuerzo anual de 1 ml administrada por vía oral aproximadamente un año después de la primera vacuna. El veterinario determinará la necesidad y la frecuencia de cualquier vacuna de refuerzo posterior en función del estilo de vida del animal y del riesgo de exposición.

Ejemplo 4. En este ejemplo teórico se describe la administración a perros de una Vacuna de virus vivos modificados contra el moquillo canino-adenovirus tipo 2-parainfluenza-parvovirus que contiene una bacterina de *Leptospira canicola-grippotyphosa-icterohaemorrhagiae-pomona*. Una preparación liofilizada de la vacuna se rehidrata asépticamente con diluyente estéril y se agita bien, de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta. Un ejemplo de este tipo de vacuna es VANGUARD® Plus 5 L4 (Pfizer Inc). Esta vacuna es una preparación liofilizada de cepas atenuadas del virus CD (aproximadamente 10^5 DICT₅₀), CAV-2 (aproximadamente 10^4 DICT₅₀), virus CPI (aproximadamente 10^8 DICT₅₀), CPV (aproximadamente 10^8 DICT₅₀) y cultivos enteros inactivados de *L. canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. pomona*. Se utiliza un gel estéril adyuvado para rehidratar el componente liofilizado, que se envasa con gas inerte en lugar de vacío.

A los perros sanos de 4 semanas de edad o más se les administra una primera dosis de 1 ml de la vacuna reconstituida por vía oral o subcutánea. Los perros reciben por vía oral una segunda dosis de 1 ml unas tres semanas después de la primera. A los perros que reciben la primera vacuna con menos de 9 semanas de edad se les administra una tercera dosis de 1 ml por vía oral unas tres semanas después de la segunda dosis. Los perros reciben una vacuna de refuerzo anual de 1 ml administrada por vía oral aproximadamente un año después de la primera vacuna. El veterinario determinará la necesidad y la frecuencia de las vacunas de refuerzo posteriores en función del estilo de vida del animal y del riesgo de exposición.

Ejemplo 5. Este ejemplo teórico describe la administración a perros de una Vacuna contra el Moquillo-Adenovirus Tipo 2-Coronavirus-Parainfluenza-Parvovirus Canino que contiene una Bacterina de *Leptospira Canicola-Grippotyphosa-Icterohaemorrhagiae-Pomona*.

Una vacuna liofilizada de virus vivos modificados de moquillo-denovirus canino tipo 2-parainfluenza-parvovirus que contiene una bacterina de *Leptospira Canicola-Grippotyphosa-Icterohaemorrhagiae-Pomona* (por ejemplo VANGUARD® Plus 5 L4, ver Ejemplo 4) se rehidrata asépticamente con una vacuna líquida de coronavirus y se agita bien, de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta. Un ejemplo de dicha vacuna contra coronavirus es una preparación líquida de coronavirus canino inactivado (CCV) con un adyuvante. La combinación de VANGUARD® Plus 5 L4 y una vacuna CCV es vendida por Pfizer como VANGUARD® Plus 5 L4 CV.

A los perros sanos de 4 semanas de edad o más se les administra una primera vacuna de 1 ml de la vacuna reconstituida por vía oral o subcutánea. Los perros reciben por vía oral una segunda dosis de 1 ml de la vacuna combinada unas tres semanas después de la primera vacuna. Los perros reciben por vía oral una dosis de 1 ml únicamente de la vacuna contra el coronavirus unas tres semanas después de la segunda dosis. Los perros que reciben la primera vacuna con menos de 9 semanas de edad reciben una segunda dosis de 1 ml de la vacuna combinada administrada por vía oral (en lugar de la vacuna contra el coronavirus) unas tres semanas después de la segunda vacuna. Los perros reciben un refuerzo anual de 1 ml de la vacuna combinada administrada por vía oral aproximadamente un año después de la vacuna de cebado. El veterinario determinará la necesidad y la frecuencia de las vacunas de refuerzo posteriores en función del estilo de vida del animal y del riesgo de exposición.

Ejemplo 6. Este ejemplo teórico describe la administración a perros de una Vacuna de virus vivos modificados contra el moquillo y el adenovirus tipo 2, la parainfluenza y el parvovirus caninos, que contiene una bacterina de *Bordetella bronchiseptica*. Una preparación liofilizada de la vacuna se rehidrata asépticamente con un diluyente líquido que contiene cultivos enteros inactivados de *B. bronchiseptica* y se agita bien, de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta. Un ejemplo de este tipo de vacuna es VANGUARD® Plus 5 (véase el Ejemplo 4). Un ejemplo de tal diluyente es una preparación líquida de un cultivo inactivado de *B. bronchiseptica*.

A los perros sanos de 4 semanas de edad o más se les administra una primera vacuna de 1 ml de la vacuna reconstituida por vía oral o subcutánea. Los perros reciben por vía oral una segunda dosis de 1 ml de la vacuna entre dos y cuatro semanas después de la primera vacuna. Los perros que reciben la primera vacuna con menos de cuatro meses de edad reciben una tercera dosis de 1 ml de la vacuna administrada por vía oral aproximadamente a los cuatro meses de edad. Los perros reciben un refuerzo anual de la vacuna de 1 ml administrada por vía oral aproximadamente un año después de la vacuna de cebado. Las siguientes vacunas orales de refuerzo de 1 ml se administran anualmente. Cuando sea probable la exposición a *B. bronchiseptica* y al virus canino, tal como en situaciones de cría, alojamiento y exhibición, puede estar indicado un refuerzo adicional o la revacunación anual debe programarse entre 2 y 4 semanas antes de estos acontecimientos.

REIVINDICACIONES

1. Una vacuna para su uso en un procedimiento de vacunación de un perro contra enfermedades caninas, en el que la vacuna comprende los siguientes virus vivos modificados: 1) adenovirus canino tipo 2 (CAV-2); 2) virus del moquillo canino (CDV); y 3) parvovirus canino (CPV);
5 **caracterizada porque** la vacuna se administra por vía subcutánea u oral en una primera dosis, por vía oral en una segunda dosis administrada de 7 a 35 días inclusive después de la primera dosis, por vía oral en una tercera dosis opcional administrada de 7 a 35 días inclusive después de la segunda dosis, y por vía oral en una dosis anual, aproximadamente un año después de la primera dosis.
2. La vacuna para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que las dosis anuales se administran repetidamente
10 aproximadamente un año después de la dosis anual inmediatamente anterior.
3. La vacuna para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que se administra la tercera dosis.
4. La vacuna para uso según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la vacuna se administra por vía oral en la primera dosis.
5. La vacuna para uso como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el tamaño de
15 la dosis es de 0,1 mL a 5 mL, inclusive.
6. La vacuna para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la vacuna comprende además virus vivos modificados de la parainfluenza canina (CPI).
7. La vacuna para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que:
 - (a) los virus vivos modificados están presentes en los siguientes intervalos de cantidades: para el virus CD,
20 10^2 DICT₅₀ a 10^8 DICT₅₀, inclusive; para el CAV-2, 10^2 DICT₅₀ a 10^8 DICT₅₀, inclusive; para el CPV, 10^3 DICT₅₀ a 10^{10} DICT₅₀, inclusive; y, si está presente, para el virus CPI, 10^3 DICT₅₀ a 10^{10} DICT₅₀, inclusive;
 - (b) los virus vivos modificados están presentes en las siguientes gamas de cantidades: para el virus CD, de 10^3 DICT₅₀ a 10^6 DICT₅₀, inclusive; para el CAV-2, de 10^3 DICT₅₀ a 10^6 DICT₅₀, inclusive; para el CPV, de 10^6 DICT₅₀ a 10^9 DICT₅₀, inclusive; y, si está presente, para el virus CPI, de 10^5 DICT₅₀ a 10^9 DICT₅₀, inclusive;
25 o bien}
 - (c) los virus vivos modificados están presentes en los siguientes intervalos de cantidades: para el virus CD, 10^4 DICT₅₀ a 10^5 DICT₅₀, inclusive; para el CAV-2, 10^4 DICT₅₀ a 10^5 DICT₅₀, inclusive; para el CPV, 10^7 DICT₅₀ a 10^8 DICT₅₀, inclusive; y, si está presente, para el virus CPI, 10^6 DICT₅₀ a 10^8 DICT₅₀, inclusive.
8. La vacuna para uso de acuerdo con la reivindicación 7, en la que la vacuna consiste en cepas atenuadas de
30 10^4 TCID₅₀ a 10^5 TCID₅₀ del virus CD, 10^4 TCID₅₀ a 10^5 TCID₅₀ del virus CAV-2, 10^6 TCID₅₀ a TCID₅₀ del virus CPI, y 10^7 TCID₅₀ a TCID₅₀ del CPV, y en la que la vacuna se administra por vía oral en una primera dosis, por vía oral en una segunda dosis administrada 3 semanas, inclusive, después de la primera dosis, y por vía oral en una tercera dosis 3 semanas, inclusive, después de la segunda dosis.
9. La vacuna para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la segunda dosis se
35 administra entre 17 y 25 días después de la primera dosis.
10. La vacuna para de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la tercera dosis se administra entre 17 y 25 días después de la segunda dosis.

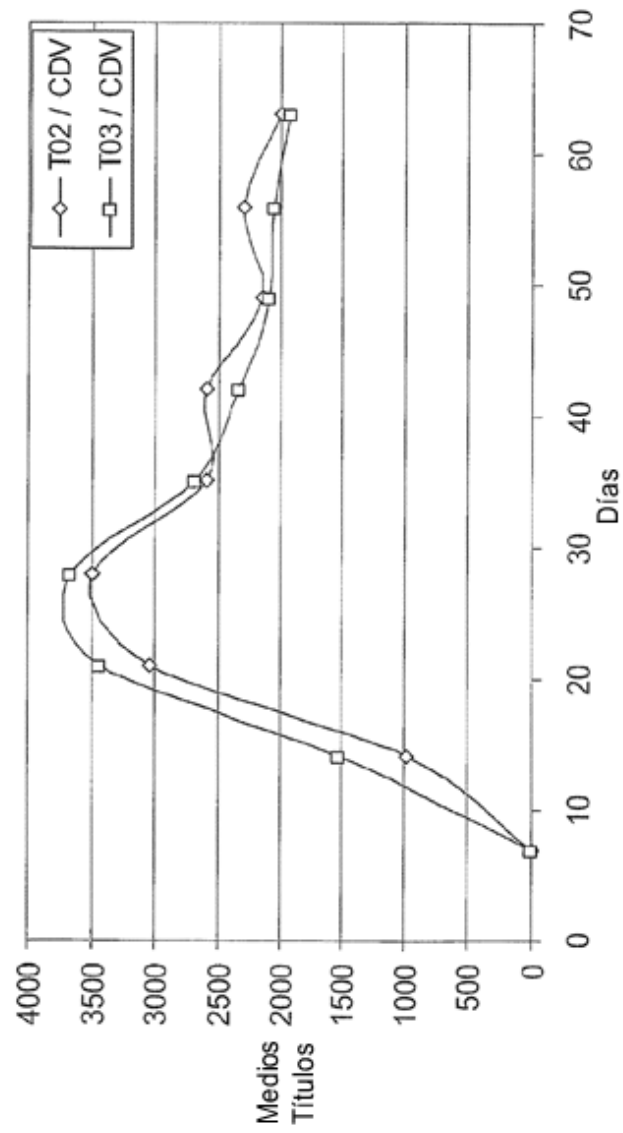


FIG. 1

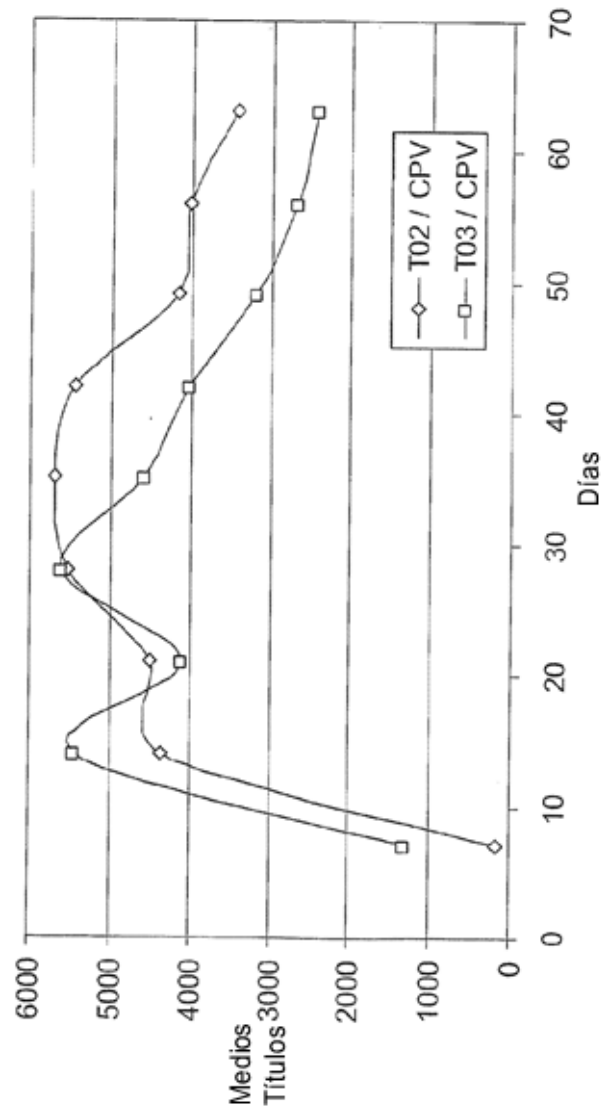


FIG. 2

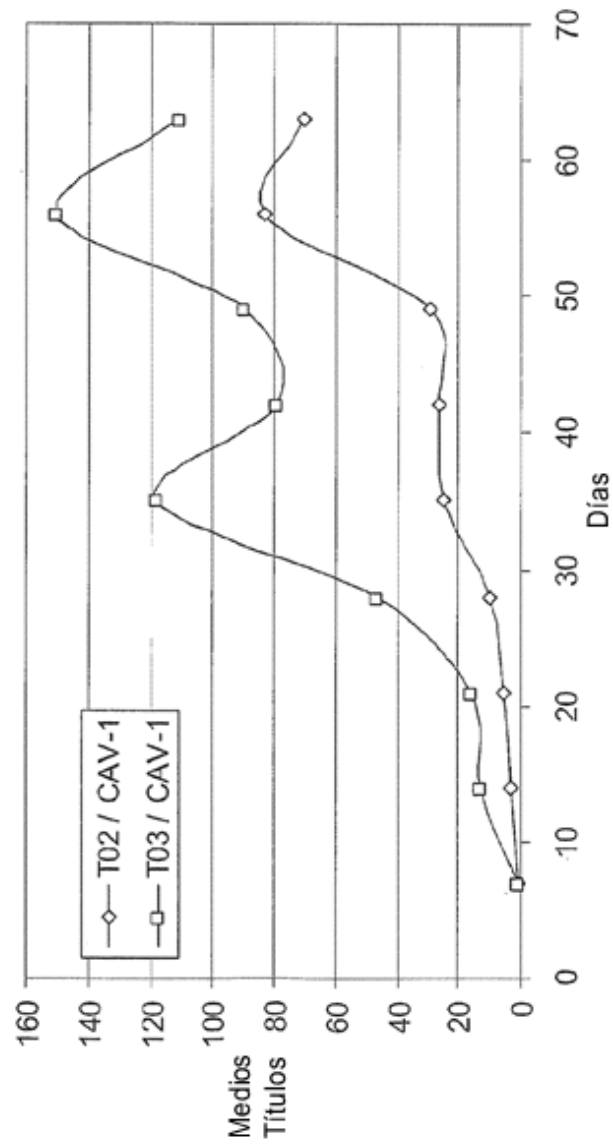


FIG. 3