



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0720667-4 A2



(22) Data de Depósito: 23/11/2007
(43) Data da Publicação: 14/01/2014
(RPI 2245)

(51) Int.Cl.:

A61K 39/02
A61K 39/10
A61K 39/12
A61K 39/155
A61K 39/175
A61K 39/23
A61K 39/295

(54) Título: MÉTODOS DE ADMINISTRAÇÃO DE
VACINA

(57) Resumo:

(30) Prioridade Unionista: 27/12/2006 US 60/877.322

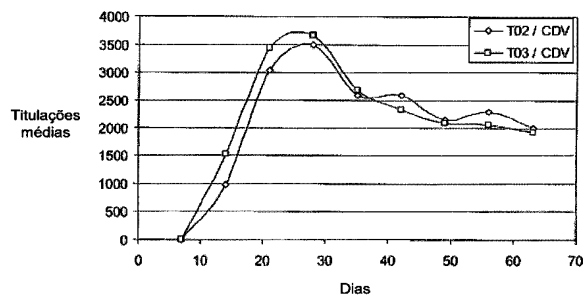
(73) Titular(es): Pfizer Products INC

(72) Inventor(es): Cassius Mcallister Tucker, John David Haworth

(74) Procurador(es): NELLIE ANNE DAIEL-SHORES

(86) Pedido Internacional: PCT IB2007003666 de 23/11/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/084294de
17/07/2008



“MÉTODOS DE ADMINISTRAÇÃO DE VACINA”

Campo da invenção

Essa invenção está relacionada a um método de tratamento de doenças caninas que compreende a administração de quantidades terapeuticamente eficazes de vacina, onde a vacina compreende antígenos virais, uma bacterina, ou ambos, e onde a vacina é administrada subcutaneamente ou oralmente de acordo com as tabelas fornecidas na presente invenção.

Antecedentes da invenção

As vacinas contra a maior parte das infecções caninas têm sido disponibilizadas por três a quatro décadas, e têm reduzido muito a incidência destas doenças infecciosas em cães (Appel. MJ. 1999. Adv Ver Med. 41:309-324). A Pfizer Veterinária comercializa muitas vacinas para prevenção de doenças associadas com várias doenças bacterianas e virais em cães. A linha VANGUARD® de vacinas, incluindo as vacinas de núcleo caninas, é utilizada na vacinação de cães saudáveis com 6 semanas de idade ou mais como um auxiliar na prevenção da Doença de Carré (CD) causada pelo vírus da Doença de Carré, da hepatite canina infecciosa (ICH) causada pelo adenovírus canino tipo 1 (CAV-1), da doença respiratória causada pelo adenovírus canino tipo 2 (CAV-2-), da parainfluenza canina (CPI) causada pelo vírus da parainfluenza canino (CPI), e da enterite parvoviral canina causada pelo parvovírus canino (CPV) (Mouzin DE, et al.; 2004, JAVMA, 224: 55-60).

A Doença de Carré é uma doença viral de alta morbidade e mortalidade, que acomete cães não vacinados no mundo. Aproximadamente 50% dos cães não vacinados e não imunizados, infectados com sinais clínicos de parvovírus canino (CDV) desenvolvem sinais clínicos e aproximadamente 90% destes cachorros morrem (Swango LJ. 1983. Norden News 58:4-10). A hepatite canina infecciosa (ICH), causada pelo adenovírus canino tipo 1 (CAV-1) é uma doença viral canina, universal, algumas vezes fatal, caracterizada por lesões endoteliais hepáticas e generalizadas. A doença respiratória causada pelo adenovírus canino tipo 2 (CAV-2), em muitos casos, pode incluir pneumonia e broncopneumonia. A vacina para o CAV-2 demonstrou proteção cruzada contra a hepatite canina infecciosa (ICH) causada pelo adenovírus canino tipo 1 (CAV-1) (Bass EP, et al., 1980, JAVMA, 177:234-242). A doença respiratória superior causada pelo vírus da CPI pode ser moderada ou subclínica, com sinais que se tornam mais graves se existir infecção concorrente com outros patógenos respiratórios. A doença entérica causada pelo parvovírus canino (CPV) é caracterizada pelo início súbito de vômito e diarreia, geralmente hemorrágica, e pode ser acompanhada por leucopenia (Appel MJ, et al., 1979, Vet Rec, 105:156-159).

A maior parte das indústrias da área de saúde comercializa vacinas de núcleo caninas em sua franchise de vacinas veterinárias. Entretanto, todas essas vacinas são fornecidas por via parenteral, especialmente por injeções subcutâneas. Uma vacina canina que

pode ser facilmente administrada pode melhorar o seu fornecimento para o animal, para o veterinário, e para o petshop, e permite que pessoas não treinadas em técnicas de administração parenteral possam administrar as vacinas nos animais.

Resumo da invenção

5 É fornecido, na presente invenção, um método de tratamento de doenças caninas que compreende a administração de quantidades terapeuticamente eficazes de vacina, onde a vacina compreende antígenos virais, uma bactéria, ou ambos, e onde a vacina é administrada subcutaneamente ou oralmente em uma primeira dose, oralmente em uma segunda dose, oralmente em uma terceira dose opcional, e oralmente em uma ou mais doses
10 anuais. Os antígenos virais compreendem um ou mais do 1) vírus da Doença de Carré (CD), 2) adenovírus canino tipo 2 (CAV-2), 3) vírus da parainfluenza canina (CPI), 4) parvovírus canino (CPV), 5) e coronavírus canino (CCV), e onde a bactéria compreende um ou mais de *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. bratislava*, e *Bordetella bronchiseptica*; e qualquer combinação de antígenos virais e bactéria.

15 É fornecido, também, na presente invenção, um método de tratamento de doenças caninas que compreende a administração de quantidades terapeuticamente eficazes da vacina, onde a vacina compreende antígenos virais, uma bactéria ou ambos, e onde a vacina é administrada subcutaneamente em uma primeira e em segunda dose, e oralmente em uma terceira dose, e oralmente em uma ou mais doses anuais. Os antígenos virais compreendem um ou mais de 1) vírus CD, 2) CAV-2, 3) vírus CPI, 4) CPV, 5) e CCV, e a bactéria
20 compreende um ou mais de de *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. bratislava*, e *Bordetella bronchiseptica*; e qualquer combinação de antígenos virais e bactéria.

Em uma modalidade, a vacina compreende um ou mais vírus vivos, um ou mais vírus vivos modificados, um ou mais vírus inativados, ou suas combinações.

Em uma modalidade, os antígenos virais são vírus CD, CAV-2, vírus CPI e CPV. Em outra modalidade, estes quatro antígenos virais são combinados com uma bactéria composta de *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*. Ainda em outra modalidade, estes quatro antígenos virais são combinados com uma bactéria
30 composta de *Bordetella bronchiseptica*. Ainda em outra modalidade, estes quatro antígenos virais são combinados com o antígeno CCV e uma bactéria composta de *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. pomona*.

As doenças caninas tratadas compreendem um ou mais das seguintes: 1) Doença de Carré; 2) hepatite canina infecciosa causada pelo vírus CAV-1; 3) doença respiratória causada pelo CAV-2 ou CCV respiratório; 4) parainfluenza canina (CPI) causada pelo vírus
35 da CPI; 5) enterite causada pelo CCV ou CPV; 6) leptospirose causada por *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. pomona* ou *L. bratislava*; e 7) traqueo-

bronquite infecciosa (“tosse dos canis”) causada pela *Bordetella bronchiseptica*.

Em uma modalidade, as doenças tratadas compreendem 1) Doença de Carré causada pelo vírus CD; 2) hepatite canina infecciosa causada pelo CAV-1; doença respiratória causada pelo CAV-2; 4) parainfluenza infecciosa causada pelo vírus da CPI; 5) e enterite parvoviral canina causada pelo CPV.

Em uma modalidade, a segunda dose é administrada em cerca de 7 a cerca de 35 dias, inclusive, após a primeira dose. Em uma modalidade mais específica, a segunda dose é administrada cerca de 3 semanas após a primeira dose. Em outra modalidade, a terceira dose é administrada em cerca de 7 a cerca de 35 dias, inclusive, após a segunda dose. Em uma modalidade mais específica, a terceira dose é administrada cerca de três semanas após a segunda dose. Ainda em outra modalidade, a dose anual é administrada cerca de um ano após a primeira dose. Ainda em outra modalidade, as doses anuais administradas após a citada dose anual são administradas repetidamente cerca de um ano após a dose anual anterior.

Breve descrição das figuras

Figura 1. Resposta sorológica (SN) para CDV (títulos médias). Animais em grupos de tratamento T02 e T03 receberam vacinas experimentais fornecidas inicialmente subcutaneamente (dia 0), e, então posteriormente, a mesma vacina é fornecida oralmente três semanas (21º dia) e seis semanas (42º dia). Os animais no grupo T02 receberam uma dose relativamente baixa, e os animais no grupo T03 receberam uma dose relativamente alta. Amostras de sangue foram coletadas semanalmente para medir as concentrações (por exemplo, títulos) de vírus da Doença de Carré.

Figura 2. Resposta sorológica (SN) para parvovírus canino (títulos médias). Animais foram tratados conforme descrito na figura 1. Amostras sanguíneas foram retiradas semanalmente para medir concentrações semanalmente (por exemplo, títulos) do parvovírus canino (CPV).

Figura 3. Resposta sorológica (SN) para adenovírus tipo 1 (CAV-1) (títulos médios). Os animais foram tratados conforme descrito na figura 1. Amostras sanguíneas foram retiradas semanalmente para medir as concentrações (por exemplo, títulos) do adenovírus canino tipo 1 (CAV-1).

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Definições e abreviações

A expressão “cerca de” ou “aproximadamente” quando utilizada juntamente com uma variável numérica mensurável, se refere ao valor indicado da variável e para todos os valores da variável que estão dentro do erro experimental do valor indicado (por exemplo, dentro do intervalo de 95% de confiança para a média) ou dentro de 10% do valor indicado, seja qual for maior, a menos que a expressão “cerca de” for utilizada com referência aos

intervalos de tempo em semanas onde a expressão “cerca de 3 semanas” significa 17 a 25 dias, e “cerca de 1 a cerca de 4 semanas” significa 10 a 40 dias.

O termo “auxiliar” significa uma substância ou composição farmacologicamente aceitável que aumenta a resposta imune a um antígeno.

5 O termo “anticorpo” se refere a uma molécula de imunoglobulina que pode se ligar a um antígeno específico como resultado de uma resposta imune ao antígeno. Imunoglobulinas são proteínas séricas compostas de cadeias de polipeptídeos “leves” e “pesadas” que apresentam regiões “constantes” e “variáveis”, e são divididas em classes (por exemplo, IgA, IgD, IgE, IgG e IgM), baseadas na composição de regiões constantes.

10 O termo “antígeno” ou “imunogene” se refere a uma molécula que contém um ou mais epitopos (lineares, de conformação ou ambos) ,que quando expostos a um indivíduo induzirá uma resposta imune específica para aquele antígeno. Um epítipo é um local específico do antígeno que se liga a um receptor de célula T ou anticorpo específico, e geralmente compreende cerca de três resíduos de aminoácidos a cerca de vinte resíduos de aminoácidos. O termo antígeno se refere a vírus ou bactérias mortos, atenuados ou inativados. O
15 termo antígeno também se refere a anticorpos, tais como anticorpos anti-idiótipos ou seus fragmentos, e para mimótopos de peptídeos sintéticos que podem imitar um determinante do antígeno ou antigênico (epítipo).

O termo “excipiente” se refere a qualquer componente de uma vacina diferente do
20 antígeno.

O termo “dose” se refere a uma vacina ou composição imunogênica fornecida a um indivíduo. Uma “primeira dose” ou “vacina inicial” se refere a dose de tal composição fornecida no dia 0. Uma “segunda dose,” ou uma “terceira dose”, ou uma “dose anual” se refere a uma quantidade de tal composição fornecida subsequentemente a primeira dose, que po-
25 de ou não ser a mesma vacina ou composição imunogênica da primeira dose.

O termo “resposta imunológica” em um indivíduo se refere ao desenvolvimento de uma resposta imune humoral, uma resposta imune celular, ou uma resposta imune celular ou humoral a um antígeno. O termo “resposta imune humoral” se refere àquela que é mediada por anticorpos. O termo “resposta imune celular” é àquela mediada por linfócitos T ou
30 outros leucócitos ou ambos, e inclui a produção de citocinas, quimiocinas e moléculas similares produzidas por células T ativadas, leucócitos ou ambos. Respostas imunológicas podem ser determinadas utilizando imunoensaios padrões e ensaios de neutralização, que são conhecidos na área.

O termo “quantidade imunológica de proteção” ou “quantidade eficaz para produzir
35 uma resposta imunológica” de um antígeno é uma quantidade eficaz para induzir uma resposta imunogênica no receptor. A resposta imunogênica pode ser suficiente para objetivos de diagnóstico ou outro teste, ou pode ser adequada para evitar sinais ou sintomas da do-

ença, reações adversas ou suas complicações, causada por infecção com um agente de doença. A imunidade humoral ou mediada por células ou ambas podem ser induzidas. A resposta imunogênica de um animal a uma composição imunogênica pode ser avaliada, por exemplo, indiretamente através da medição de títulos de anticorpos, ensaios de proliferação de linfócitos, ou diretamente através de sinais de monitoramento e sintomas após tentativas com cepas do tipo selvagem, visto que a imunidade de proteção conferida por uma vacina pode ser avaliada medindo, por exemplo, a redução dos sinais clínicos, tais como mortalidade, morbidade, temperatura, condições físicas, saúde e desempenho gerais do indivíduo. A resposta imunológica pode compreender, sem limitação, a indução da imunidade celular e/ou humoral.

O termo “imunogênico” significa produzir uma resposta imunológica ou antigênica. Logo, uma composição imunogênica poderia ser qualquer composição que induz uma resposta imunológica.

O termo “intranasal” significa dentro do nariz. Logo, administração intranasal se refere à introdução de uma substância, tal como uma vacina, em um indivíduo pelo nariz, o que pode ocorrer, por exemplo, colocando um ou mais gotas no nariz. Isto significa o transporte da substância principalmente através do nariz e mucosa nasofaríngea.

O termo “dias *N*”, intervalo ou período de tempo “*N*”, ou “dias *M*” após um evento se refere, respectivamente, a qualquer momento no dia *N* ou *M* após o evento. Por exemplo, vacinar um indivíduo com uma segunda vacina 21 dias após a administração de uma primeira significa que a segunda vacina é administrada a qualquer momento no 21º dia após a primeira vacina. Essa descrição é aplicada geralmente em um intervalo entre uma primeira e uma segunda vacinação, ou entre uma segunda e terceira vacinação.

A administração “oral” ou “perioral” se refere à introdução de uma substância, tal como uma vacina, em um indivíduo pela boca e envolve a absorção ou transporte através da mucosa oral (por exemplo, absorção sublingual ou bucal) ou ambos.

A administração “oronasal” se refere à introdução de uma substância, tal como uma vacina em um indivíduo pelo nariz e boca, como pode ocorrer, por exemplo, colocando uma ou mais gotas no nariz. A administração oronasal envolve os processos de transporte associados com a administração oral e intranasal.

A administração “parenteral” se refere à introdução de uma substância, tal como uma vacina, em um indivíduo por uma via que não inclui o trato digestivo. A administração parenteral inclui administração subcutânea, administração intramuscular, transcutânea, intradérmica, intraperitoneal, intraocular, e intravenosa. Para o objetivo desta descrição, a administração parenteral exclui a via de administração que inicialmente envolve o transporte da substância através da mucosa da boca, nariz, traquéia e pulmões.

O termo “aceitável farmacêuticamente” se refere a substâncias, que estão dentro do

escopo de um julgamento médico correto, adequadas para uso em contato com os tecidos, sem toxicidade, irritação, resposta alérgica e semelhantes, comensurável com a proporção risco benefício, e eficaz para uso.

“Indivíduo” se refere a um cão.

5 “TCID₅₀” se refere à “dose infecciosa de cultura de tecido” e é definida como a diluição de um vírus necessária para infeccionar 50% de um lote fornecido de cultura de células inoculadas. Vários métodos conhecidos pelos versados na técnica podem ser utilizados para calcular a TCID₅₀, incluindo o método de Spearman-Kärber, que é utilizado através dessa especificação. Para uma descrição do método de Spearman-Kärber, ver B.W. Mahy & H.O.
10 Kangro, *Virology Methods Manual* 25-46 (1996).

“Quantidade terapeuticamente eficaz”, no contexto desta descrição, se refere a uma quantidade de um antígeno ou vacina que pode induzir uma resposta imune em um indivíduo que recebe o antígeno ou vacina que é adequada para evitar sinais ou sintomas de doença, incluindo efeitos colaterais ou complicações, causados pela infecção por um patógeno, tal como um vírus ou uma bactéria. A imunidade humoral ou mediada por células ou
15 ambas podem ser induzidas. A resposta imunogênica de um animal a uma vacina pode ser avaliada, por exemplo, indiretamente através da medição de títulos de anticorpos, ensaios de proliferação de linfócitos, ou diretamente através de sinais de monitoramento ou sinais após tentativas com a cepa do tipo selvagem. A imunidade de proteção conferida por uma
20 vacina pode ser avaliada pela medição, por exemplo, a redução de sinais clínicos, tal como mortalidade, morbidade, número da temperatura, condição física geral, e saúde e desempenho gerais do indivíduo. A quantidade de uma vacina que seja eficaz terapeuticamente pode variar dependendo do vírus em particular utilizado ou a condição do indivíduo, e pode ser determinada por um médico veterinário.

25 “Tratando” se refere a evitar um distúrbio, condição ou doença a qual o termo se aplica; ou para evitar um ou mais sintomas de tal distúrbio, condição, ou doença; ou para reverter, aliviar, ou inibir o progresso de tal distúrbio, condição ou doença.

“Tratamento” se refere ao ato de “tratar”, conforme definido acima.

“Vacina” se refere a uma composição que inclui um antígeno, conforme definido na
30 presente invenção. A administração da vacina a um indivíduo resulta em uma resposta imune, geralmente contra uma ou mais doenças específicas. A quantidade de uma vacina que é eficaz terapeuticamente pode variar dependendo do vírus em particular utilizado, ou a condição do cão, e pode ser determinada por um médico veterinário. A vacina pode ser introduzida diretamente no indivíduo por via de administração subcutânea, oral, oronasal ou intra-
35 nasal.

“VANGUARD® Plus 5” é uma vacina disponível comercialmente que contém o vírus da Doença de Carré (CD), adenovírus canino tipo 2 (CAV-2), vírus da parainfluenza canina

(CPI) e parvovírus canino (CPV). “VANGUARD® Plus 5 L4” é uma vacina disponível comercialmente que contém o vírus da Doença de Carré (CD), CAV-2, vírus da CPI, CPV e *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae*, e *L. pomona*. “VANGUARD® Plus 5 L4 CV” é uma vacina disponível comercialmente que contém o vírus da Doença de Carré (CD), CAV-2, vírus da CPI, coronavírus canino (CCV) e *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae*, e *L. pomona*. O nome VANGUARD® é registrado e patenteado pela Pfizer, Inc.

Descrição da invenção

É descrita na presente invenção, uma forma de vacinação que reduz a morbidade e mortalidade em animais, e facilita a administração de vacinas em petshops, pelos veterinários e donos de animais. É altamente desejável administrar vacinas utilizando métodos diferentes de injeção quando os animais são mais velhos. As vacinas orais provavelmente causam menos efeitos colaterais indesejáveis do que os observados após vacinações parenterais. Vacinas orais podem ser administradas por indivíduos não treinados na administração parenteral (isto é, através de agulha e seringa), dessa forma aumentando a frequência provável de vacinação e proteção da doença.

A invenção proporciona métodos de vacinação de um cão com vacina ou composição imunogênica como um auxiliar na prevenção ou tratamento de doença causada por cepas virulentas ou bacterianas, incluindo mas não limitada a 1) Doença de Carré (CD) causada pelo vírus CD; 2) hepatite infecciosa canina (ICH) causada pelo adenovírus canino tipo 1 (CAV-1); 3) doença respiratória causada pelo adenovírus canino tipo 2 (CAV-2); 4) parainfluenza canina causada pelo vírus da CPI, e 5) enterite parvoviral canina causada pelo parvovírus canino (CPV). Outras doenças caninas, conforme descrito posteriormente, podem ser tratadas através dessa invenção.

Os métodos compreendem a administração a um cão de quantidades terapêuticamente eficazes de uma primeira, segunda e, opcionalmente, uma terceira dose de uma composição, que é capaz de induzir uma resposta imune no indivíduo. A administração é também fornecida um ano após a primeira dose como um reforço anual. A primeira dose pode ser administrada subcutaneamente ou oralmente. A segunda dose é administrada oralmente cerca de N dias após a administração da primeira vacina. Na presente invenção, N é um número inteiro em torno de 7 a 35, inclusive, mas é geralmente um número inteiro em torno de 14 a 28, inclusive. O intervalo entre a primeira e a segunda dose pode também ser de cerca de 2 a cerca de 4 semanas, com o intervalo de preferência sendo de cerca de 3 semanas.

Os métodos também incluem uma terceira dose opcional administrada oralmente M dias após a administração da segunda dose. Na presente invenção, M é um número inteiro em torno de 7 a 35, inclusive, mas é geralmente um número inteiro em torno de 14 a 28,

inclusive. O intervalo entre a segunda e a terceira dose pode também ser de cerca de 2 a cerca de 4 semanas, com o intervalo de preferência sendo de cerca de 3 semanas. Logo, no dia 0 (dia da administração da primeira dose), M pode ser um número inteiro em torno de 28 a 56, inclusive, mas é geralmente um número inteiro em torno de 35 a 49, inclusive. O intervalo entre a primeira e a terceira dose pode também ser de cerca de 5 a cerca de 7 semanas, com o intervalo de preferência sendo de cerca de 6 semanas.

Os métodos também incluem uma administração oral anual de uma vacina fornecida cerca de um ano após a administração da primeira vacina. Geralmente, essa dose é fornecida de cerca de quatro semanas antes a cerca de quatro semanas após o primeiro ano de aniversário da primeira vacina. O veterinário pode determinar a necessidade e frequência de qualquer vacina de reforço subsequente, baseado no estilo de vida do animal e risco de exposição.

Os métodos podem empregar qualquer vacina que é capaz de induzir uma resposta imune em um cão. A via de administração para as vacinas inclui a via subcutânea, oral, oronasal e intranasal. A primeira vacina é adaptada para ser administrada oralmente ou subcutaneamente. A segunda, a terceira e a dose anual são adaptadas para serem administradas oralmente. Qualquer dispositivo adequado pode ser utilizado para administrar as vacinas, incluindo seringas, gotas, dispositivos de injeção em agulha, e semelhantes. Para administração oral, uma seringa adaptada com uma cânula pode ser utilizada para aplicar uma dose da vacina na boca do cão.

Em adição ao esquema de administração acima, os métodos também abrangem um esquema de administração onde uma primeira dose é administrada subcutaneamente. Uma segunda dose é administrada subcutaneamente cerca de N dias após a administração da primeira vacina. Na presente invenção, N é um número inteiro de cerca de 7 a cerca de 35, inclusive, mas é geralmente um número inteiro em torno de 14 a 28, inclusive. O intervalo entre a primeira e a segunda dose pode também ser de cerca de 2 a cerca de 4 semanas, com o intervalo de preferência sendo de cerca de 3 semanas. Uma terceira dose é administrada oralmente M dias após a administração da segunda dose. Na presente invenção, M é um número inteiro em torno de 7 a 35, inclusive, mas é geralmente um número inteiro em torno de 14 a 28, inclusive. O intervalo entre a segunda e a terceira dose pode também ser de cerca de 2 a cerca de 4 semanas, com o intervalo de preferência sendo de cerca de 3 semanas. Uma administração oral anual de uma vacina é fornecida cerca de um ano após a administração da primeira vacina. Geralmente, essa dose é fornecida de cerca de quatro semanas antes de cerca de quatro semanas após um ano de aniversário da primeira vacina. O veterinário pode determinar a necessidade e a frequência de quaisquer vacinas de reforço baseado no estilo de vida e risco de exposição do animal. Para esse esquema de administração, a primeira e a segunda doses são adaptadas para serem administradas subcutane-

amente. A terceira e a dose anual são adaptadas para serem administradas oralmente.

A primeira, segunda, terceira, e dose anual podem ser as mesmas ou uma vacina diferente ou composição imunogênica, e cada uma compreende, independentemente, um ou mais antígenos. As vacinas são baseadas em vírus vivos, mortos e cepas de bactérias mortas. Logo, vacinas úteis incluem vacinas de vírus vivos, de vírus vivos modificados, e de vírus inativados, sozinhos ou combinados. Vacinas com material vivo ou vivo modificado contêm cepas que não causam doença em cães e foram isoladas na forma não virulenta ou foram atenuadas utilizando métodos bem conhecidos na área, incluindo passagem serial em uma linhagem de célula adequada ou exposição à luz ultravioleta ou um mutagene químico. Vacinas de material inativado ou morto contêm cepas que foram inativadas através de métodos conhecidos, incluindo tratamento com formalina, betapropriolactona (BPL), etilenoimina binário (BEI), ou outros métodos conhecidos pelos versados na técnica.

As vacinas podem conter antígenos para imunizar cães para proteger ou para tratar doenças, incluindo, mas não limitado a 1) doença de Carré causada por vírus; 2) hepatite infecciosa canina causada pelo adenovírus canino tipo 1; 3) doença respiratória causada por adenovírus canino tipo 2 ou coronavírus respiratório canino; 4) parainfluenza canina causada pelo vírus da parainfluenza canina; 5) enterite causada por coronavírus canino ou parvovírus canino; 6) Leptospirose causada por *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona* e *L. bratislava*; e 7) traqueobronquite infecciosa ("tosse dos canis") causada pela *Bordetella bronchiseptica*. Exemplos de vacinas adequadas incluem aquelas na linha de produção VANGUARD®, incluindo, mas não limitadas a VANGUARD® Plus 5, VANGUARD® Plus 5 L4, e VANGUARD® Plus 5 L4 CV. Uma vacina pode ser combinada com outras vacinas para produzir um produto da vacina polivalente que pode proteger cães contra uma ampla variedade de doenças causadas por outros patógenos. Atualmente, produtores comerciais de vacinas caninas, assim como os usuários finais, preferem produtos de vacinas polivalentes.

Para vacinas que contêm vírus vivos modificados ou atenuados, uma dose terapêuticamente eficaz varia geralmente de cerca de 10^2 TCID₅₀ a cerca de 10^{10} TCID₅₀, inclusive. Para vírus específicos, uma dose eficaz terapêuticamente está geralmente nas seguintes faixas: para vírus CD, de cerca de 10^2 TCID₅₀ a cerca de 10^8 TCID₅₀, inclusive; de cerca de 10^3 TCID₅₀ a cerca de 10^6 TCID₅₀, inclusive; ou de cerca de 10^4 TCID₅₀ a cerca de 10^5 TCID₅₀, inclusive; para CAV-2, de cerca de 10^2 TCID₅₀ a cerca de 10^8 TCID₅₀, inclusive; ou de cerca de 10^3 TCID₅₀ a cerca de 10^6 TCID₅₀, inclusive; ou de cerca de 10^4 TCID₅₀ a cerca de 10^5 TCID₅₀, inclusive; para CPV, de cerca de 10^3 TCID₅₀ a cerca de 10^{10} TCID₅₀, inclusive; ou de cerca de 10^6 TCID₅₀ a cerca de 10^9 TCID₅₀, inclusive; ou de cerca de 10^7 TCID₅₀ a cerca de 10^8 TCID₅₀, inclusive; e para vírus da CPI, de cerca de 10^3 TCID₅₀ a cerca de 10^{10} TCID₅₀, inclusive; ou de cerca de 10^5 TCID₅₀ a cerca de 10^9 TCID₅₀, inclusive; ou de cerca

de 10^6 TCID₅₀ a cerca de 10^8 TCID₅₀, inclusive. A quantidade de CCV em uma preparação viral inativada deve ter no mínimo cerca de 100 unidades relativas por dose, e de preferência, de cerca de 1.000 a cerca de 4.500 unidades relativas por dose.

Para vacinas contendo uma bacterina, uma dose terapeuticamente eficaz para cada espécie *Leptospiral* na vacina geralmente está na faixa de cerca de 100 unidades nefelométricas (NU) a cerca de 3.500 NU por dose de vacina, e de preferência na faixa de cerca de 200 NU a cerca de 2.000 NU por dose. Uma dose terapeuticamente eficaz para *Bordetella bronchiseptica* na vacina geralmente está na faixa de cerca de 3×10^6 a cerca de 3×10^{11} células, inclusive; ou de cerca de 3×10^7 a cerca de 3×10^{10} células inclusive; ou de cerca de 3×10^8 a cerca de 3×10^9 células, inclusive.

Outros componentes das vacinas podem incluir excipientes farmacologicamente aceitáveis, incluindo veículos, solventes, e diluentes, agentes isotônicos, tampões, estabilizadores, conservantes, agentes imunomoduladores (por exemplo, interleucinas, interferons e outras citocinas), agentes vasoconstrictores, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos e semelhantes. Veículos típicos, solventes e diluentes incluem água, solução salina, dextrose, etanol, glicerol, e semelhantes. Agentes isotônicos representativos incluem cloreto de sódio, dextrose, manitol, sorbitol, lactose e semelhantes. Estabilizadores úteis incluem gelatina, albumina e semelhantes.

Conforme utilizado na presente invenção, "um veículo farmacologicamente aceitável" inclui qualquer e todos os solventes, meios de dispersão, revestimentos, auxiliares, estabilizantes, diluentes, conservantes, agentes antibacterianos e antifúngicos, agentes isotônicos, agentes de retardo da adsorção, e semelhantes. O(s) veículo(s) deve(m) ser "aceitável(eis)" no sentido de ser compatível com os componentes da invenção e não prejudicar o indivíduo a ser imunizado. Geralmente, os veículos são estéreis e livres de pirogênio, e selecionados baseados no modo de administração a ser utilizado. Será bem conhecido pelos versados na técnica que as formulações de preferência para o veículo farmacologicamente aceitável, que compreendem as vacinas são os veículos farmacêuticos aprovados nas leis de aplicação promulgadas pelo Departamento de Agricultura Americano, ou agência governamental equivalente em um país diferente. Contudo, o veículo farmacologicamente aceito para produção comercial das vacinas é um veículo que já é aprovado ou será aprovado pela agência governamental adequada nos Estados Unidos ou em outro país.

As composições da vacina podem opcionalmente incluir diluentes sólidos, semi-sólidos ou líquidos farmacologicamente aceitáveis (isto é, estéreis e não tóxicos), vacina-compatíveis que servem como veículos farmacêuticos, excipientes ou meios. Diluentes podem incluir água, solução salina, dextrose, etanol, glicerol, e semelhantes. Agentes isotônicos incluem cloreto de sódio, dextrose, manitol, sorbitol, e lactose, entre outros. Estabilizadores incluem albumina, entre outros.

As vacinas podem também ser misturadas com um ou mais auxiliares que sejam farmacologicamente aceitáveis. Muitos destes auxiliares são bem conhecidos na área. Auxiliares representativos incluem auxiliares com base oleosa, tal como o de Freund. Auxiliar completo e auxiliar de Freund incompleto, auxiliares com base de micolato (por exemplo, dimicolato de trealose), lipopolissacarídeos bacterianos, peptidoglicanos (isto é, mureínas, mucopéptidos ou glicoproteínas, tais como N-Opaca, dipeptídeo de muramila ou seus análogos), proteoglicanos (por exemplo, extraídos da *Klebsiella pneumoniae*), preparações estreptocócicas (por exemplo, OK432), BIOSTIM® (por exemplo, 01K2), Iscoms (por exemplo, ver Pedido de Patente Europeia Nos. EP 109942, EP 180564 e EP 231039), hidróxido de alumínio, saponina, dietilaminoetil (DEAE)-dextrano, óleos neutros (por exemplo, migliol), óleos vegetais (por exemplo óleos de amendoim), lipossomas, polióis PLURONIC®. Outros auxiliares incluem o sistema auxiliar RIBI, alumina, gel de hidróxido de alumínio, colesterol, emulsões óleo-em-água, emulsões água-em óleo, co-polímeros de bloco (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), óleo de lecitina (por exemplo, auxiliar AMPHIGEN®), saponina, Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc. Cambridge, MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc. Birmingham, AL), ou outras frações da saponina, monofosforila lipídica A, auxiliar amino-lipídico Avridine, enterotoxina instável com o calor, da *Escherichia coli* (recombinante ou de outra forma), toxina da cólera ou muramil dipeptídeo, entre outros.

As composições imunogênicas podem incluir também um ou mais outros agentes imunomoduladores, tais como, por exemplo, interleucinas, interferons, ou outras citocinas. As composições imunogênicas podem ser também antibióticos, incluindo gentamicina e mertiolate.

As quantidades das vacinas variam geralmente de cerca de 0,1 mL a cerca de 5 mL, inclusive. Geralmente, uma dose de cerca de 1 mL é utilizada para vacinas orais. Cada dose contém uma quantidade terapêuticamente eficaz do antígeno ou antígenos que podem variar dependendo da idade e da condição geral do cão, da via de administração, da natureza do antígeno, e de outros fatores. As quantidades e as concentrações dos outros componentes das vacinas podem ser ajustadas para modificar as propriedades físicas e químicas das vacinas, e podem, prontamente, serem determinadas pelos versados na técnica. Por exemplo, auxiliares geralmente compreendem de cerca de 25 µg a cerca de 1000 µg, inclusive, de uma dose de 1 mL. Da mesma forma, os anticorpos geralmente compreendem de cerca de 1 µg a cerca de 60 µg, inclusive, de uma dose de 1 mL.

Um versado na técnica pode prontamente formular uma vacina. As vacinas são fornecidas estéreis e livres de pirogênio. As composições imunogênicas podem ser feitas de várias formas dependendo da via de administração, exigências de armazenamento, e semelhantes. Por exemplo, as composições imunogênicas podem ser feitas na forma de soluções aquosas estéreis ou dispersões adequadas para uso injetável, ou produzidas em formas

liofilizadas utilizando técnicas de congelamento-secagem. Composições imunogênicas liofilizadas podem ser reconstituídas antes do uso em uma solução estabilizante, por exemplo, solução salina e/ou HEPES, com ou sem auxiliar.

Os indivíduos adequados para vacinação podem incluir cães que apresentam cerca de quatro semanas de idade ou mais. Logo, a primeira dose pode ser fornecida a um cão com cerca de quatro semanas de idade, seguido por doses subsequentes de acordo com o tabela fornecida na presente invenção. Certas vacinas preparadas comercialmente fornecem direções para o tempo da administração e o número de doses baseadas no potencial para interferência do anticorpo materno. Por exemplo, a etiqueta do produto para VANGUARD® Plus 5 L4 (Pfizer Inc.) indica que os cães que recebem a primeira vacina com menos de 9 semanas de idade devem receber uma terceira dose de 1 mL, oralmente administrada, cerca de três semanas após a segunda dose.

Exemplos

Os seguintes exemplos têm o objetivo de ilustrar e não limitar, e representam poucas modalidades específicas da presente invenção.

Exemplo 1. Este estudo avalia a habilidade de uma vacina de material vivo modificado de causar soroconversão (por exemplo, alterando de um estado sem anticorpos para um estado com concentrações relativamente altas de anticorpos para antígenos específicos) quando é administrada subcutaneamente na primeira dose, então oralmente na segunda e na terceira dose.

Os antígenos de interesse são adenovírus canino tipo 1 (CAV-1), parvovírus canino (CPV) e vírus da Doença de Carré (CDV). Trinta e três filhotes com idade entre 6 e 9 semanas no início do estudo, não apresentando anticorpos para CAV-1, CPV ou CDV foram divididos aleatoriamente em três grupos de tratamento com 11 cães cada. Os cães no grupo de tratamento T01 receberam vacina com placebo três vezes, três semanas separadas. Esse grupo de tratamento foi incluído para garantir que os animais não fossem expostos a vírus de interesse, exceto através de vacinação experimental. Os animais nos grupos de tratamento T02 e T03 receberam vacinas experimentais, inicialmente subcutaneamente (no dia 0), e então a mesma vacina oralmente três semanas (21° dia) e seis semanas (42° dia) depois. A única diferença entre T02 e T03 foi a quantidade do vírus nas vacinas administradas, com T02 recebendo uma dose relativamente baixa, e T03 recebendo uma dose relativamente alta. Amostras de sangue foram coletadas semanalmente para medir as concentrações (por exemplo, títulos) de anticorpos específicos. As amostras séricas foram analisadas para anticorpos séricos contra CDV, CPV e CAV-1, de acordo com procedimentos padrões. Nas tabelas 1 e 2 são apresentados detalhes do projeto experimental e do produto veterinário em pesquisa (IVP).

Tabela 1. Projeto experimental

Grupo	N	Vacinação			Coleta do soro
		Dia 0	21° dia	42° dia	
T01 Controle negativo	11	Solução salina SQ	Solução salina	Solução oral	Dias 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63
T02	11	Título baixo SQ	Título baixo oral	Título baixo oral	
T03	11	Título alto SQ	Título alto oral	Título alto oral	

SQ = subcutâneo

Tabela 2. Produto veterinário em pesquisa (IVP)

IVP	Vacina serial	Entrada viral aproximada Títulos por dose (log)	Número de doses	Volume por dose
CDV-CAV ₂ -CPV-CPI com título baixo	L031006C (diluído 100X)	CDV: 2,7 CAV ₂ : 2,2 CPV: 6,0 CPI: 5,9	T01 = 0 T02 = 33 T03 = 0 Total = 33	Aprox. 1 mL
CDV-CAV ₂ -CPV-CPI com título relativamente alto	L031006	CDVC: 4,7 CAV ₂ : 4,2 CPV: 8,0 CPI: 7,9	T01 = 0 T02 = 0 T03 = 33 Total = 33	Aprox. 1 mL

Todos os animais em T01 permaneceram essencialmente livres de anticorpos para os antígenos de interesse, indicando que não ocorreu exposição a estes vírus. Os animais em T02 e T03 responderam da mesma forma que as vacinas, indicando que a dose não influenciou significativamente os padrões de respostas. Independente do antígeno, os animais que receberam vacinas experimentais (grupos T02 e T03) responderam intensamente à primeira dose da vacina (administrada subcutaneamente). Por comparação e perspectiva, os animais foram considerados protegidos da doença quando apresentaram títulos de anticorpos maiores ou iguais a 1:16 para CAV-1, 1:32 pra CDV e 1:80 para CPV.

Os anticorpos CDV-específicos apresentaram o seu valor máximo com 28 dias após a primeira vacinação, com títulos médios de 1:3499 e 1:3668 para T02 e T03, respectivamente (ver figura 1) no caso de títulos CDV-específicos após vacinação subcutânea, essa

concentração de anticorpos pode ter sido alta o suficiente para interferir com a reação subsequente do animais às vacinas administradas oralmente. Anticorpos específicos contra CPV seguiram o mesmo padrão, embora os títulos máximos de anticorpos ocorreram duas semanas após a primeira vacinação oral (título médio de 1:5702 no 36° dia) para cães em T02, e uma semana após a primeira vacinação oral (título médio de 1:5613 no 28° dia) para cães em T03 (ver figura 2).

Devido às diferenças de tempo entre as concentrações máximas de anticorpos para CDV e CPV, esse padrão pode ser interpretado como uma resposta imunológica à vacinação oral, embora os títulos iniciais altos do anticorpo dificultem a interpretação. Entretanto, anticorpos específicos contra CAV-1 indicam claramente que existe uma grande resposta imunológica à dosagem oral para esse antígeno (ver figura 3). No dia da primeira vacinação oral, no 21° dia, os animais em T02 apresentaram títulos médios de anticorpos específicos para CAV-1 de 1:5, e em T03 apresentaram títulos de 1:16. Duas semanas depois, os cães apresentaram títulos de anticorpos de 1:25 e 1:118 nos grupos T02 e T03, respectivamente. Ainda mais marcante, duas semanas após a segunda vacina administrada oralmente, no 56° dia, os animais apresentaram títulos médios de 1:83 e 1:150 em T02 e T03, respectivamente. Tradicionalmente, os títulos de anticorpos para CAV-1 são menores do que os outros dois antígenos, o que pode reduzir a probabilidade de interferência causada pela vacinação subcutânea.

Embora títulos altos de anticorpos específicos para CDV e CPV, após uma vacinação subcutânea, tornem a interpretação clara da eficácia da dosagem oral para CDV e CPV, a conclusão deste estudo é que os cães são capazes de apresentar soroconversão em resposta à vacinação subcutânea após vacinação oral.

Uma conclusão secundária é que a vacinação oral é uma via prática e potencialmente eficaz de administração da vacina em cães.

Exemplo 2

Este estudo avalia a habilidade de uma vacina de material vivo modificado de causar soroconversão (por exemplo, alterando de um estado sem anticorpos para um estado com concentrações relativamente altas de anticorpos para antígenos específicos) quando uma vacina é administrada subcutaneamente, ou oralmente na primeira dose, então oralmente na segunda e na terceira dose.

Trinta e nove filhotes com idade entre 6 e 10 semanas no início do estudo, não apresentando anticorpos para adenovírus canino tipo 1 (CAV-1), parvovírus canino (CPV), vírus da Doença de Carré (CDV), ou parainfluenza canino (CPI) foram divididos aleatoriamente em três grupos de tratamento com 13 cães cada. Os cães no grupo de tratamento T01 receberam vacina oralmente com placebo três vezes, três semanas separadas. Esse grupo de tratamento foi incluído para garantir que os animais não fossem expostos a vírus

de interesse, exceto através de vacinação experimental. Os animais nos grupos de tratamento T02 receberam vacina experimental, oralmente nos dias 0, 21° e 42°. Os animais no grupo de tratamento T03 receberam vacina experimental subcutaneamente no dia 0, e então a mesma vacina oralmente três semanas depois (21° dia) e seis semanas depois (42° dia).

- 5 A única diferença entre T02 e T03 foi que T02 recebeu a primeira dose oralmente, e T03 recebeu a primeira dose subcutaneamente. As amostras sanguíneas foram coletadas semanalmente para medir as concentrações (por exemplo, títulos) de anticorpos específicos. Amostras séricas foram analisadas para anticorpos séricos contra CDV, CPV e CAV-1, de acordo com procedimentos padrões. (Animais vacinados com CAV-2 geram reação cruzada com anticorpos para CAV-1). Os animais apresentaram resposta considerada positiva (isto é, protegidos contra a doença) caso apresentassem títulos de anticorpos maiores ou iguais a 1:16 para CAV-1, 1:32 para CD, e 1:16 para CPV. Nas tabelas 3 e 4 são apresentados detalhes do projeto experimental e do produto veterinário em pesquisa (IVP).
- 10

Tabela 3. Projeto experimental

Grupo	N	Vacinação			Coleta do soro
		Dia 0	21° dia	42° dia	
T01 Controle negativo	13	Veículo oral	Veículo oral	Veículo oral	Dias 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63
T02	13	IVP oral	IVP oral	IVP oral	
T03	13	IVP SQ	IVP oral	IVP oral	

SQ = subcutâneo

IVP = produto veterinário em pesquisa

Tabela 4. Produto veterinário em pesquisa (IVP)

IVP	Vacina serial	Entrada viral aproximada Títulos por dose (log)	Número de doses	Volume por dose
CDV-CAV ₂ -CPV-CPI com título alto	L25Aug06C mais CDV Prep#71802	CDV: 3,5 CAV ₂ : 4,0 CPV: 7,1 CPI: 5,2	T01 = 0 T02 = 39 T03 = 39 Total = 78	Aprox. 1 mL

Conforme apresentado na tabela 5, todos os animais no grupo T03 (SQ, oral, oral)

- apresentaram soroconversão contra os três vírus medidos em torno do 63º dia. Todos os animais no grupo T02 (oral, oral, oral) apresentaram soroconversão contra CPV e CAV-1 em torno do 63º dia. Aproximadamente metade dos animais no grupo T02 apresentam soroconversão para CDV em torno do 63º dia, sugerindo que as alterações na formulação atual podem ser possíveis. Logo, estes resultados demonstram que a dosagem oral é uma tentativa eficaz para vacinação.

Tabela 5. Resultados da soroconversão

Resultados da soroconversão		Dia do estudo		
		21º	42º	63º
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

- Exemplo 3. Esse exemplo descreve a administração a cães de uma vacina de vírus vivo modificado da Doença de Carré – adenovírus tipo 2 – da parainfluenza – parvovírus. Uma preparação congelada-seca da vacina é reidratada assepticamente com diluente estéril e bem agitada, de acordo com as instruções do rótulo. Um exemplo de tal vacina é a VANGUARD® Plus 5 (Pfizer Inc.). Essa vacina contém cepas atenuadas do vírus CD (aproximadamente 10^5 TCID₅₀), CAV-2 (aproximadamente 10^4 TCID₅₀), vírus da CPI (aproximadamente 10^8 TCID₅₀), e CPV (aproximadamente 10^8 TCID₅₀) disseminadas em uma linhagem estabilizada de células caninas.

- Cães saudáveis com 4 semanas de idade ou mais recebem uma primeira dose de 1 mL da vacina reconstituída oralmente ou subcutaneamente. Os cães recebem uma segunda dose de 1 mL oralmente cerca de três semanas após a primeira vacina, seguido pela administração oral de uma terceira dose de 1 mL, cerca de três semanas após a segunda dose. Os cães receberam uma vacina de reforço anual de 1 mL oralmente, com cerca de um ano após a primeira vacina. Os veterinários determinam a necessidade e frequência de qualquer vacina de reforço subsequente baseada no estilo de vida do animal e risco de exposição.

- Exemplo 4. Esse exemplo descreve a administração a cães de uma vacina de vírus vivo modificado da Doença de Carré – adenovírus tipo 2 – parainfluenza – parvovírus contendo uma bacterina de *Leptospira canicola* – *Grippotyphosa* – *Icterohaemorrhagiae* – Po-

mona. Uma preparação congelada-seca da vacina é reidratada assepticamente com diluente estéril e bem agitada, de acordo com as instruções do rótulo. Um exemplo de tal vacina é a VANGUARD® Plus 5 L4 (Pfizer Inc.). Essa vacina é uma preparação congelada-seca de cepas atenuadas do vírus CD (aproximadamente 10^5 TCID₅₀), CAV-2 (aproximadamente 10^4 TCID₅₀), vírus da CPI (aproximadamente 10^8 TCID₅₀), CPV (aproximadamente 10^8 TCID₅₀), e culturas inativadas de *L. canicola*, *L. grippotyphose*, *L. icterohaemorrhagiae*, e *L. pomona*. Um gel auxiliar estéril é utilizado para reidratar o componente congelado-seco, que é embalado com gás inerte no lugar do vácuo.

Cães saudáveis com 4 semanas de idade ou mais velhos recebem uma primeira dose de 1 mL da vacina reconstituída oralmente ou subcutaneamente. Os cães recebem uma segunda dose de 1 mL oralmente cerca de três semanas após a primeira vacina. Os cães que receberam a primeira vacina com menos de 9 semanas de idade recebem uma terceira dose de 1 mL oralmente com cerca de três semanas após a segunda dose. Os cães receberam uma vacina de reforço anual de 1 mL oralmente, com cerca de um ano após a primeira vacina. Os veterinários determinam a necessidade e a frequência de qualquer vacina de reforço subsequente baseada no estilo de vida do animal e risco de exposição.

Exemplo 5.

Esse exemplo descreve a administração a cães de uma vacina de vírus da Doença de Carré – adenovírus tipo 2 – Coronavírus - parainfluenza – parvovírus contendo uma bactéria de *Leptospira canicola* – *Grippotyphosa* – *Icterohaemorrhagiae* – *Pomona*.

Uma vacina de vírus vivo modificado, congelada-seca de Doença de Carré – adenovírus tipo 2 – parainfluenza – parvovírus contendo uma bactéria de *Leptospira canicola* – *Grippotyphosa* – *Icterohaemorrhagiae* – *Pomona* (por exemplo, VANGUARD® Plus 5 L4, ver exemplo 4) é reidratada assepticamente com uma vacina de coronavírus líquida e bem agitada, de acordo com as instruções do rótulo. Um exemplo de tal vacina de coronavírus é uma preparação líquida de coronavírus canino inativado (CCV) com um auxiliar. A combinação da VANGUARD® Plus 5 L4 com uma vacina CCV é vendida pela Pfizer como VANGUARD® Plus 5 L4 CV.

Cães saudáveis com 4 semanas de idade ou mais velhos recebem uma primeira dose de 1 mL da vacina reconstituída oralmente ou subcutaneamente. Os cães recebem uma segunda dose de 1 mL oralmente da vacina combinada cerca de três semanas após a primeira vacina. Os cães recebem oralmente uma dose de 1 mL somente da vacina de coronavírus por cerca de três semanas após a segunda dose. Os cães que receberam a primeira vacina com menos de 9 semanas de idade recebem uma segunda dose de 1 mL oralmente da vacina combinada (no lugar da vacina coronavírus) com cerca de três semanas após a segunda vacina. Os cães receberam uma vacina de reforço anual de 1 mL oralmente da vacina combinada, com cerca de um ano após a primeira vacina. Os veterinários deter-

minam a necessidade e a frequência de qualquer vacina de reforço subsequente baseada no estilo de vida do animal e risco de exposição.

Exemplo 6.

Esse exemplo descreve a administração a cães de uma vacina de vírus vivo modificado da Doença de Carré – adenovírus tipo 2 – parainfluenza – parvovírus contendo uma bacterina de Bordetella bronchiseptica. Uma preparação congelada-seca da vacina é reidratada assepticamente com um diluente líquido contendo culturas inativadas de *B. bronchiseptica* e bem agitada, de acordo com as instruções do rótulo. Um exemplo de tal vacina é a VANGUARD® Plus 5 (ver exemplo 4). Um exemplo de tal diluente é uma preparação de tal cultura inativada de *B. bronchiseptica*.

Cães saudáveis com 4 semanas de idade ou mais recebem uma primeira dose de 1 mL da vacina reconstituída oralmente ou subcutaneamente. Os cães recebem uma segunda dose de 1 mL oralmente da vacina cerca de duas a quatro semanas após a primeira vacina. Os cães que recebem a primeira vacina com menos de quatro meses de idade recebem uma terceira dose de 1 mL administrada oralmente com cerca de quatro meses de idade. Os cães receberam uma vacina de reforço anual de 1 mL oralmente da vacina, com cerca de um ano após a primeira vacina. As vacinas de reforço orais de 1 mL subsequentes são administradas anualmente. Quando existe a probabilidade de exposição a *B. bronchiseptica* e ao vírus canino, tal como na procriação, em viagens, ou em situações de exibição, uma vacina de reforço adicional pode ser indicada ou uma nova vacinação anual deve ser agendada 2 a 4 meses antes destes eventos.

Deve ser observado que, conforme utilizado nessa especificação e nas reivindicações em anexo, artigos tais como, “um”, “uma”, e “a” podem se referir a um objeto ou a uma pluralidade de objetos, a menos que o contexto indique claramente o contrário. Logo, por exemplo, uma referência a uma composição contendo “um composto” pode incluir um composto único ou dois ou mais compostos.

Deve ser compreendido que os exemplos e descrições acima têm o objetivo de ilustrar e não de restringir. Muitas modalidades se tornarão claras para os versados na técnica após a leitura da descrição acima. O escopo da invenção deve, portanto, ser determinado com referência às reivindicações em anexo, juntamente com o escopo total de equivalentes as quais tais reivindicações são especificadas.

Todos os métodos descritos e reivindicados na presente invenção podem ser executados sem se afastar da experiência da invenção. Embora os métodos dessa invenção tenham sido descritos através de várias modalidades, será aparente para os versados na técnica, que as variações podem ser aplicadas nas etapas ou na sequência de etapas do método descrito na presente invenção sem se afastar do conceito, espírito e escopo da invenção. Mais especificamente, ficará claro que certos agentes que estão tanto quimicamen-

te como fisiologicamente relacionados, podem ser substituídos pelos agentes descritos na presente invenção, com a obtenção dos mesmos resultados. Tais substitutos similares e modificações aparentes para os versados na técnica devem estar de acordo com o espírito, escopo e conceito da invenção, conforme definido pelas reivindicações em anexo.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de tratamento de doenças caninas, **CARACTERIZADO** pelo fato de compreender a administração de quantidades terapêuticamente eficazes de vacina, onde a vacina compreende antígenos virais, uma bacterina, ou ambos, e onde a vacina é administrada subcutaneamente ou oralmente em uma primeira dose, oralmente em uma segunda dose, oralmente em uma terceira dose opcional, e oralmente em uma ou mais doses anuais, e onde os antígenos virais compreendem um ou mais 1) vírus da Doença de Carré (CD), 2) adenovírus canino tipo 2 (CAV-2), 3) vírus da parainfluenza canina (CPI), 4) parvovírus canino (CPV), 5) e coronavírus canino (CCV) e onde a bacterina compreende um ou mais de *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. bratislava*, e *Bordetella bronchiseptica*; e qualquer combinação de antígenos virais e bactérias.

2. Método de tratamento de doenças caninas, **CARACTERIZADO** pelo fato de compreender a administração de quantidades terapêuticamente eficazes de vacina, onde a vacina compreende antígenos virais, uma bacterina, ou ambos, e onde a vacina é administrada subcutaneamente na primeira e na segunda dose, e oralmente na terceira dose, e oralmente em uma ou mais doses anuais, e onde os antígenos virais compreendem um ou mais 1) vírus da Doença de Carré (CD), 2) adenovírus canino tipo 2 (CAV-2), 3) vírus da parainfluenza canina (CPI), 4) parvovírus canino (CPV), 5) e coronavírus canino (CCV) e onde a bacterina compreende um ou mais de *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. bratislava*, e *Bordetella bronchiseptica*; e qualquer combinação de antígenos virais e bactérias.

3. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CARACTERIZADO** pelo fato dos antígenos virais serem o vírus da Doença de Carré, adenovírus tipo 2 (CAV-2), vírus da parainfluenza canina (CPI), e parvovírus canino (CPV).

4. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CARACTERIZADO** pelo fato dos antígenos virais serem o vírus da Doença de Carré, adenovírus do tipo 2 (CAV-2) e parvovírus canino (CPV), e as bactérias na bacterina são *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. pomona*.

5. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CARACTERIZADO** pelo fato dos antígenos virais serem o vírus da Doença de Carré, adenovírus do tipo 2 (CAV-2), vírus da parainfluenza canina (CPI), e parvovírus canino (CPV), e coronavírus canino (CCV), e as bactérias na bacterina são *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. pomona*.

6. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CARACTERIZADO** pelo fato dos antígenos virais serem o vírus da Doença de Carré, adenovírus do tipo 2 (CAV-2), vírus da parainfluenza canina (CPI), e parvovírus canino (CPV), e a bactéria na bacterina é a *Bordetella bronchiseptica*.

7. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CHARACTERIZADO** pelo fato das doenças caninas compreenderem um ou mais vírus da 1) doença de Carré; 2) hepatite infecciosa canina causada pelo adenovírus canino tipo 1 (CAV-1); 3) doença respiratória causada por adenovírus canino tipo 2 (CAV-2), ou coronavírus respiratório canino (CCV); 4) parainfluenza canina causada pelo vírus da parainfluenza canina; 5) enterite causada por coronavírus canino (CCV), ou parvovírus canino (CPV); 6) leptospirose causada por *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona* e *L. bratislava*; e 7) traqueobronquite infecciosa (“tosse dos canis”) causada pela *Bordetella bronchiseptica*.

8. Método, de acordo com a reivindicação 7, **CHARACTERIZADO** pelo fato das doenças compreenderem 1) doença de Carré causada por vírus; 2) hepatite infecciosa canina causada pelo adenovírus canino tipo 1 (CAV1-1); 3) doença respiratória causada por adenovírus canino tipo 2 (CAV-2); 4) parainfluenza canina causada pelo vírus da parainfluenza canina; 5) enterite causada ou parvovírus canino.

9. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CHARACTERIZADO** pelo fato dos antígenos virais estarem presentes nas seguintes faixas de quantidades: para vírus CD, de cerca de 10^2 TCID₅₀ a cerca de 10^8 TCID₅₀, inclusive; para CAV-2 de cerca de 10^2 TCID₅₀ a cerca de 10^8 TCID₅₀, inclusive; para CPV, de cerca de 10^3 TCID₅₀ a cerca de 10^{10} TCID₅₀, inclusive; para vírus da CPI, de cerca de 10^3 TCID₅₀ a cerca de 10^{10} TCID₅₀, inclusive; e para CCV, no mínimo cerca de 100 unidades relativas (RU) por dose.

10. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CHARACTERIZADO** pelo fato dos antígenos virais estarem presentes nas seguintes faixas de quantidades: para vírus CD, de cerca de 10^3 TCID₅₀ a cerca de 10^6 TCID₅₀, inclusive; para CAV-2 de cerca de 10^3 TCID₅₀ a cerca de 10^6 TCID₅₀, inclusive; para CPV, de cerca de 10^6 TCID₅₀ a cerca de 10^9 TCID₅₀, inclusive; para vírus da CPI, de cerca de 10^5 TCID₅₀ a cerca de 10^9 TCID₅₀, inclusive; e para CCV, cerca de 1.000 unidades relativas (RU) a cerca de 4.500 RU por dose.

11. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CHARACTERIZADO** pelo fato dos antígenos virais estarem presentes nas seguintes faixas de quantidades: para vírus CD, de cerca de 10^4 TCID₅₀ a cerca de 10^5 TCID₅₀, inclusive; para CAV-2 de cerca de 10^4 TCID₅₀ a cerca de 10^5 TCID₅₀, inclusive; para CPV, de cerca de 10^7 TCID₅₀ a cerca de 10^9 TCID₅₀, inclusive; para vírus da CPI, de cerca de 10^6 TCID₅₀ a cerca de 10^8 TCID₅₀, inclusive.

12. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CHARACTERIZADO** pelo fato de cada *Leptospira* estar presente em uma faixa de cerca de 100 unidades nefelométricas (NU) para cerca de 3.500 NU por dose de vacina, e onde a *Bordetella bronchiseptica* está presente na faixa de cerca de 3×10^6 a cerca de 3×10^{11} células, inclusive.

13. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CHARACTERIZADO** pelo fato de cada *Leptospira* estar presente em uma faixa cerca de 200 unidades nefelométricas (NU) para cerca de 2.000 NU por dose de vacina, e onde a *Bordetella bronchiseptica* está presen-

te na faixa de cerca de 3×10^7 a cerca de 3×10^{10} células inclusive.

14. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CHARACTERIZADO** pelo fato da *Bordetella bronchiseptica* estar presente em uma faixa de cerca de 3×10^8 a cerca de 3×10^9 células inclusive.

5 15. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CHARACTERIZADO** pelo fato da segunda dose ser administrada de 7 a 35 dias, inclusive, após a primeira dose.

16. . Método, de acordo com a reivindicação 15, **CHARACTERIZADO** pelo fato da segunda dose ser administrada cerca de 3 semanas após a primeira dose.

10 17. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CHARACTERIZADO** pelo fato da terceira dose ser administrada de 7 a 35 dias, inclusive, após a segunda dose.

18. Método, de acordo com a reivindicação 17, **CHARACTERIZADO** pelo fato da terceira dose ser administrada cerca de 3 semanas após a segunda dose.

19. Método, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, **CHARACTERIZADO** pelo fato da dose anual ser administrada cerca de um ano após a primeira dose.

15 20. Método, de acordo com a reivindicação 19, **CHARACTERIZADO** pelo fato das doses anuais administradas após a citada dose anual serem administradas repetidamente cerca de um ano após a primeira dose anual.

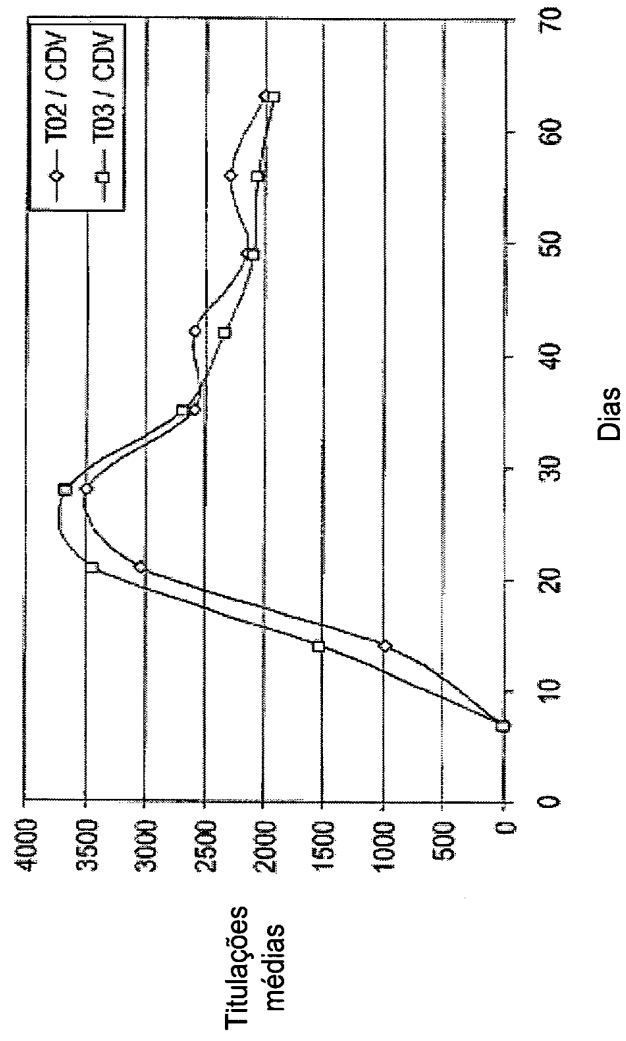
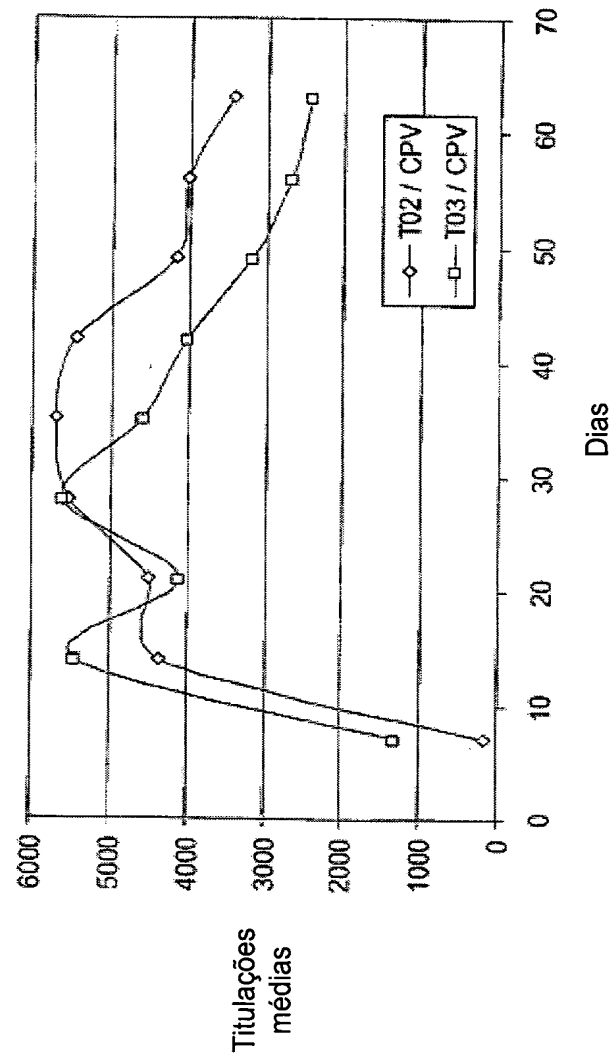


FIG. 1

**FIG. 2**

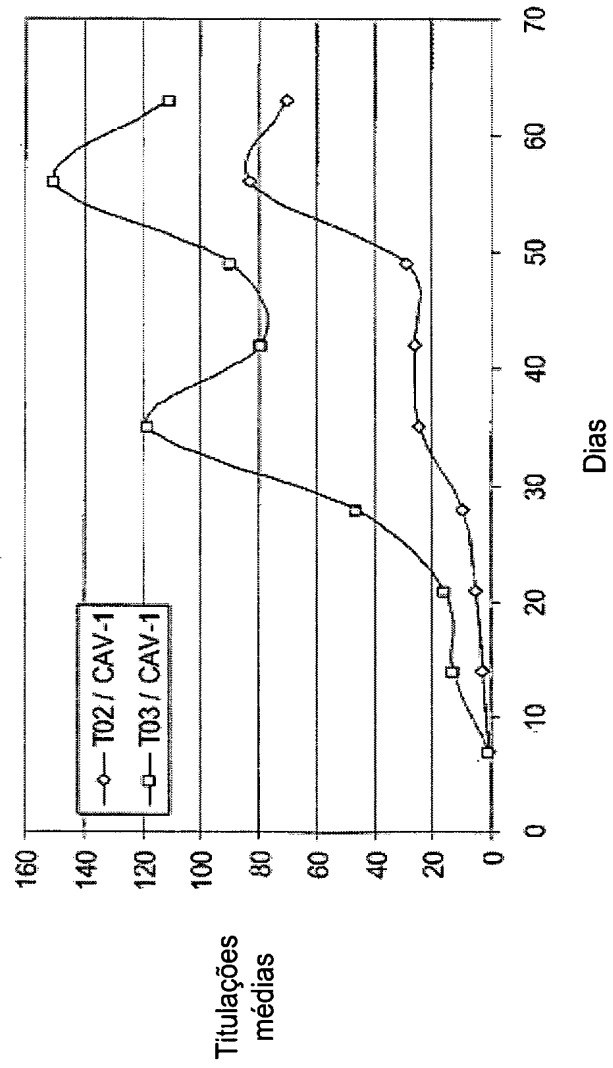


FIG. 3

RESUMO

“MÉTODOS DE ADMINISTRAÇÃO DE VACINA”

Essa invenção está relacionada a um método de tratamento de doenças caninas compreendendo a administração de quantidades terapeuticamente eficazes de uma vacina, onde a vacina compreende antígenos virais, uma bacterina, ou ambos, e onde a vacina é administrada subcutaneamente ou oralmente de acordo com as tabelas fornecidas na presente invenção.