

IV.

C. 9920.

33107729



331077

PATENTE DE INVENCION
=====

a favor de

MERCK & CO., INC. - de nacionalidad norteamericana - domiciliada
en RAHWAY, New Jersey, (EE.UU.), 126 East Lincoln Avenue,

por :

"Procedimiento para preparar una vacuna".

-----:oOo:-----

Memoria descriptiva.
=====



La presente invención se relaciona con una vacuna combinada contra la viruela y el virus viviente de sarampión y particularmente con un preparado que mantiene sus propiedades durante períodos apreciables de almacenaje.

5 Para la mayor parte de la población del mundo el sarampión (Rubeola) y la viruela, son problemas de salud extremadamente importantes. Han sido desarrolladas vacunas muy efectivas contra cada una de estas enfermedades pero generalmente estas vacunas se administran separadamente. Habría ventajas y simplificaciones considerables en el
10 uso de las dos vacunas coadministradas en una dosis única. Esto sería especialmente cierto para los países subdesarrollados del mundo en donde las facilidades médicas para administrar vacunas son limitadas.

Los primeros esfuerzos de investigación mostraron que las vacunas contra el sarampión y contra la viruela pueden ser coadministradas conjuntamente al hombre utilizando un dispositivito inyector como medio de inyección. Este procedimiento involucra, sin embargo, el tener que mezclar las diferentes vacunas líquidas contra el sarampión y contra la viruela inmediatamente antes de la administración. Es evidente que si las dos sustancias podrían ser premezcladas y estabilizadas por
15 secado en la forma mezclada, habría una considerable facilidad en el manejo de las vacunas en el momento de su uso, especialmente reduciría las probabilidades de contaminación y los errores en la manipulación de las vacunas.

La presente invención se relaciona con la técnica de premezclar vacunas contra el sarampión y la viruela, distribuir las en recipientes individuales, y estabilizar la actividad de los dos componentes de la mezcla mediante un proceso de liofilización. Más específicamente se ha comprobado que es técnicamente posible secar los dos componentes de sarampión y viruela en forma mezclada sin una pérdida significativa de la actividad inmunizadora de cualquiera de los dos componen-
25
gis.- 30



tes. Estas vacunas mixtas están destinadas para ser inyectadas a sujetos humanos mediante el uso del dispositivo inyector empleando el avance oblicuo o el avance perpendicular. También es aceptable su inyección intradérmica o subcutánea utilizando una jeringa hipodérmica. El
5 avance oblicuo del dispositivo inyector permite inyectar intradérmicamente 0,1 ml de la vacuna combinada. El avance vertical, cuando existe un ajuste que permite que haya una distancia apropiada entre el inyector y la piel, permite distribuir intradérmicamente 0,1 ml de la vacuna combinada y 0,4 ml en los tejidos más profundos. El empleo del inyector sin ajuste permite que esencialmente toda la vacuna se deposite
10 a una profundidad mayor que la de la piel. Ajustes apropiados del instrumento permiten ampliar variaciones de estos volúmenes.

La vacuna contra el sarampión puede ser cualquiera de las que han sido reconocidas aceptables para el ser humano, como ser la vacuna viviente atenuada contra el sarampión, Enders nivel B, desarrollada en cultivos de células de embrión de pollo. Esta vacuna puede obtenerse comercialmente de Merck & Co. Inc. bajo la marca RUBEOVAX. Otra
15 vacuna contra el sarampión que puede utilizarse es la cepa de Schwarz de virus viviente atenuado que también puede obtenerse comercialmente. La vacuna contra el sarampión que se emplea debe ser de tal carácter
20 infeccioso que una única dosis del producto final administrado al hombre contenga por lo menos 1000 DICT₅₀ del virus de sarampión atenuado. (En el presente la División de Normas Biológicas requiere 100 DICT₅₀/dosis. Esto puede ser cambiado).

25 Si no se desea utilizar una vacuna contra el sarampión obtenida comercialmente, la vacuna puede prepararse mediante técnicas convencionales. Un proceso representativo es el que utiliza el virus desarrollado en preparaciones de cultivo de células de embriones de pollos. Los cultivos de células se desarrollan en un medio nutritivo sintético
30 como el que se designa como Medio 199 el cual contiene suero bovino y



antibióticos apropiados. El virus de sarampión que se usa para infec-
tar el cultivo de células es un cultivo puro de la cepa Edmonston u
otra cepa aceptable del virus de sarampión que se haya comprobado que
está libre de virus extraños. El virus que se cosecha a partir del cul-
5 tivo de células se clarifica por filtrado de manera de separar cual-
quier resto celular extraño. La preparación del virus luego se exami-
na como lo prescribe la División de Normas Biológicas del Instituto
Nacional de la Salud, Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos.
La vacuna que conforma todas las normas reglamentarias es aceptable pa-
10 ra uso en el hombre.

La vacuna contra la viruela puede ser cualquiera de las que
han sido reconocidas apropiadas para uso humano. Puede ser propagada,
en el ternero, en embriones de pollo, en cultivos de células de embri-
ones de pollo, u otros tejidos apropiados, o mediante cualquier otro pro-
15 ceso aceptable.

Procedimientos para la preparación y el control de vacunas con-
tra la viruela han sido descritos en Requerimientos Mínimos para vacu-
nas contra la viruela, publicado por la División de Normas Biológicas,
Instituto Nacional de la Salud, Servicio de Salud Pública de los Esta-
20 dos Unidos. Generalmente, la vacuna contra la viruela consiste en el
virus viviente de la viruela obtenido de las vesículas en el ectodermo
del ternero (u otro animal apropiado) a la altura de la vesiculación
que resulta de una infección artificial del animal con un preparado a-
propiado del virus de la viruela. Las vesículas se extraen del ternero
25 u otro animal en forma de pulpa o linfa y se examinan en la forma pres-
crita por la División de Normas Biológicas del Instituto Nacional de la
Salud. La pulpa luego se trata mediante un procedimiento que separa pro-
teínas extrañas y reduce marcadamente o elimina completamente contami-
naciones bacterianas o fungosas. Luego se somete a exámenes de seguri-
30 dad, pureza y potencia.

331077 29-AGO



Un estabilizador apropiado se agrega a las dos vacunas para evitar o reducir al mínimo la pérdida de potencia cuando se secan. El producto final puede contener además sulfato de neomicina u otros antibióticos o preservativos apropiados.

5 La mezcla de las dos vacunas se lleva a cabo en condiciones asépticas. La vacuna mixta se normaliza de manera que el volumen de la dosis de la mezcla destinada al uso humano contenga por lo menos 10^3 DICT₅₀ (50% dosis infecciosa de cultivo de tejidos) del virus de sarampión y aproximadamente 10^5 unidades formadoras de plaquetas (UFP) por 0,1 ml de virus de viruela. La valorización de virus que se obtiene por el método de plaquetas generalmente corresponde al obtenido por la observación del efecto cecopático (DICT₅₀). Estas cantidades del virus crean anticuerpos contra ambos virus en esencialmente todas las personas no inmunes. Además, casi todos los sujetos desarrollan un "prendimiento" primario contra la viruela con formación de cicatriz.

10
15 La vacuna combinada se coloca en recipientes de vidrio, se congela a -60°C y subsecuentemente se seca mediante liofilización.

A continuación se dan ejemplos de la preparación de ciertas partidas de la vacuna combinada.

20 EJEMPLO 1

Se empleó una vacuna contra el sarampión con una valorización de $10^{3,4}$ DICT₅₀/0,1 ml.

25 La vacuna contra la viruela tenía una valorización calculada de $10^{8,4}$ UFP/ml. La vacuna contra la viruela se mezcló con la vacuna contra el sarampión en una relación de 1 parte viruela a 59 partes sarampión.

La vacuna combinada se distribuyó en cantidades de 11 ml, se congeló a -60°C y se secó por liofilización. Para su uso, la ampolla se restituyó con 11 ml de agua destilada esterilizada.

30 Un análisis de esta mezcla dió los siguientes resultados:



Análisis de plaquetas de viruela: $10^{5,6}/0,1$ ml
 Análisis de tubo de viruela: $10^{5,4}$ DICT₅₀/0,1 ml
 Análisis de sarampión: $10^{2,9}$ DICT₅₀/0,1 ml

Los siguientes ejemplos muestran variaciones del Ejemplo I
 5 mediante la dilución de la vacuna de viruela en la vacuna de sarampión.

- Ejemplo 2- 1 parte viruela - 9 partes sarampión.
- Ejemplo 3 - 0,1 parte viruela - 9,9 partes sarampión.
- Ejemplo 4 - 0,01 parte viruela - 9,99 partes sarampión.
- 10 Ejemplo 5 - 0,001 parte viruela - 9,999 partes sarampión.

Los análisis de estas mezclas dieron los siguientes resultados:

Ejemplo	Descripción	Vacuna contra viruela		Vacuna contra sarampión
		DICT ₅₀ /0,1 ml	UFP/0,1 ml	DICT ₅₀ /0,1 ml
15	2 Congelada	$10^{5,6}$	$10^{5,9}$	
	Seca	$10^{5,6}$	$10^{5,9}$	$10^{2,9}$
20	3 Congelada	$10^{4,7}$	$10^{5,1}$	
	Seca	$10^{4,6}$	$10^{5,1}$	$10^{2,8}$
25	4 Congelada	$10^{3,6}$	$10^{3,8}$	
	Seca	$10^{3,8}$	$10^{3,8}$	$10^{2,6}$
30	5 Congelada	$10^{2,6}$	$10^{2,9}$	
	Seca	$10^{2,4}$	$10^{3,0}$	$10^{2,9}$

EJEMPLO 6

Se preparó una mezcla de manera idéntica al Ejemplo I con la
 excepción que se utilizaron partidas diferentes de vacunas contra la
 30 viruela y contra el sarampión.



	Virus	Resultados de las Pruebas	
		<u>DICT₅₀/0,1 ml</u>	<u>UFP/0,1 ml</u>
5	Viruela, congelado	10 ^{4,7}	10 ^{5,2}
	Viruela, seco	10 ^{4,6}	10 ^{5,1}
	Sarampión	10 ^{2,7}	

Esencialmente todos los niños susceptibles vacunados hasta el presente con la vacuna combinada del Ejemplo 1 desarrollaron un "prendimiento" primario a la vacuna contra la viruela, desarrollaron un anticuerpo inhibidor de hemaglutinación contra el virus de la viruela y estos individuos estuvieron inmunes a la viruela como se comprobó al darse una vacuna contra la viruela por el método común de múltiples pinchazos en una fecha posterior. Esencialmente todos los niños reaccionaron serológicamente a la vacuna contra el sarampión con el desarrollo de un anticuerpo a niveles de valoración que se aproximan a los obtenidos cuando la vacuna contra el virus de sarampión se emplea sola.

Estos ejemplos muestran que la mezcla de los dos virus vivos son compatibles, estables y rinden un producto seco que es altamente efectivo para inmunizar sujetos humanos.

Las vacunas combinadas deben contener una cantidad mínima de 10^{1,0} DICT₅₀ de sarampión y una cantidad mínima de 10^{2,0} UFP/0,1 ml de virus de vacuna por dosis.

29 AGO.



331077

N O T A
 =====

Se reivindica como objeto de la presente patente :

1. - Procedimiento para preparar una vacuna, caracterizado porque comprende secar una vacuna contra el sarampión y una vacuna contra la viruela y luego liofilizar las mismas para formar una vacuna combinada estable contra el sarampión y la viruela en cantidad suficiente para promover en las personas anticuerpos contra cada uno de los virus. .
2. - Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende mezclar una vacuna contra el sarampión y una vacuna contra la viruela antes de secar y liofilizar las mismas.
3. - Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque comprende combinar los virus en una relación de por lo menos 10^3 DICT₅₀ unidades por dosis de virus de sarampión y 10^5 unidades formadoras de plaquetas por 0,1 ml de virus de viruela.
4. - Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque comprende combinar los virus en la relación de por lo menos $10^{1,0}$ DICT₅₀ por dosis humana de virus de sarampión y $10^{2,0}$ unidades formadoras de plaquetas por 0,1 virus de viruela.
5. - Procedimiento para preparar una vacuna.

Esta memoria consta de ocho páginas, escritas por una sola cara.

BARCELONA, 29 AGO. 1966

P. A.