

371256



371256

SECCION TECNICA
CLASIFICACION
CLASE <u>C12</u> <u>AG1</u>
SUBCLASE <u>K</u> <u>K</u>

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de una

PATENTE DE INVENCION

Solicitante: MERCK & CO. INC.

Residencia: 126 East Lincoln Avenue, RAHWAY, New Jersey, USA.

Enunciado: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA VACUNA MULTIVALENTE".

Prioridad: de la solicitud de patente estadounidense No. 759.237, del 11 de setiembre de 1968.



1 Este invento se refiere a una combinación
para vacuna y especialmente a una preparación licor
2 lizada de tres virus atenuados vivos previamente mez
3 clados, a saber, sarampión, paperas y rubeola. El in
4 vento también considera que cualquiera de estos tres
5 virus pueda ser omitido de la combinación.

 Actualmente existe un gran número de vacunas
para inmunizar a las personas contra una amplia varie
7 dad de enfermedades y si cada una de ellas tuviera que
8 ser administrada por separado, la piel del paciente
9 tendría que ser pinchada muchas veces. Igualmente, se-
10 ría necesario un gran número de doctores u otro perso-
11 nal sanitario debido al tiempo requerido para cada in-
12 yección independiente. Por esta razón, ha constituido
13 una práctica común en el pasado combinar los antígenos
14 de dos o más virus muertos en una sola preparación. Un
15 ejemplo de ello es la vacuna trivalente contra difteria,
16 tosferina y tétanos.

 Aunque los virus muertos han sido combinados con
17 éxito, no ha resultado cierto que los virus vivos pue-
18 dan ser combinados sin pérdida de potencia. Alguna evi-
19 dencia ha indicado que ciertos virus vivos atenuados
20 son incompatibles en una sola preparación, especialmen-
21 te durante su almacenamiento en espera de ser utili-
22 zados. Por ejemplo, se ha afirmado que las tres varie
23 24 25

371256



1 dades de virus de la polio generalmente utilizadas
no pueden ser combinadas con éxito en una sola
vacuna.

5 De acuerdo con el presente invento, se ha en-
contrado que pueden combinarse los virus vivos ate-
nuados del sarampión, paperas y rubecia para preparar
una vacuna trivalente o que cualquiera de ellos pue-
de ser omitido de forma que puedan prepararse las tres
vacunas divalentes. Los virus vivos atenuados separa-
10 dos serían preparados independientemente uno de otro
siguiendo procedimientos conocidos, se mezclarían en
las proporciones adecuadas para formar la vacuna diva-
lente o trivalente deseada y esta mezcla previa sería
después liofilizada.

15 El producto previamente mezclado y liofiliza-
do sería embalado en viales o ampollas, ya sea para
una sola dosis o para una multidosis. Se reconstitui-
ría en el lugar de uso mediante la adición de agua
destilada estéril. En el envase se indicaría la can-
20 tidad de agua a añadir y el volumen a ser inyectado
para administrar la cantidad mínima del virus presen-
te. Estas cantidades variarían entre las diversas uni-
dades gubernamentales.

25 El virus del sarampión puede ser cualquiera de
los virus atenuados vivos ya conocidos y clínicamente

371256



1 aceptados. Uno de los preferidos es el virus, vivo y
atenuado del sarampión en el nivel Enders B, desarro-
llado en cultivos de células de embrión de pollo. El
método para obtener este virus del sarampión atenua-
5 do está descrito en New Eng. J. Med. 263, 153 (1960)
y New Eng. J. Med. 263, 230 (1960). Una vacuna con-
teniendo este virus se encuentra en el mercado en for-
ma liofilizada bajo el nombre comercial de RUBIOVAX.
Otra vacuna del sarampión que puede ser utilizada es
10 la variedad Schwarz de virus vivo que es atenuada me-
diante el procedimiento descrito en Ann. Paediat, 202,
241, (1964). Este último virus existe comercialmente
en forma de vacuna liofilizada.

15 Todavía otro virus atenuado que puede ser emplea-
do es el que se encuentra en el mercado con el nombre
comercial de ATTENUVAX (Moraten Line) y que es una ate-
nuación posterior de un cultivo en tejido de células
de embrión de pollo en el nivel Enders B. Se encuen-
tra en prensa un artículo en J.A.M.A.

20 La vacuna del sarampión que se emplea debe tener
una inactividad tal que una sola dosis del producto
combinado final administrado al hombre debe contener
como mínimo 1000 unidades TCID₅₀ del virus del saram-
pión atenuado para satisfacer los requisitos estadouni-
25 denses pero las vacunas efectivas pueden tener solamen-

371256



SEP.

1 te 20 unidades TCD_{50} .

5 El virus de las paperas es preferiblemente el virus vivo atenuado de la vacuna vendida en forma liofilizada con el nombre comercial de MUMPVAX. Su preparación está descrita en la solicitud de patente estadounidense n° 479.653, presentada el 13 de Agosto de 1965. También está descrita su preparación en la revista Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 123, 768, (1966). Debe encontrarse presente en la vacuna combinada una cantidad del virus de las paperas suficiente para que una sola dosis de la misma sirva para administrar como mínimo 5000 unidades TCD_{50} para satisfacer los requisitos estadounidenses. Unas cantidades tan bajas como 317 unidades en una sola dosis darán una respuesta satisfactoria de anticuerpos.

10

15

El virus de la rubeola es de preferencia el virus vivo atenuado contenido en la vacuna que se encuentra ahora en etapa de ensayo clínico y que será comercializada con el nombre de MRUVAX. Su preparación está descrita en la patente estadounidense n° 3.401.064 que fué publicada el 10 de Septiembre de 1968. Su preparación también está descrita en J.A.M.A., 204, 195 (1968). En la vacuna combinada debe encontrarse una cantidad del virus de la rubeola suficiente para que una sola dosis de la misma administre como mínimo 1000 uni

20

25



1 dades TCID₅₀ para satisfacer los requisitos estado-
 unidenses pero de nuevo puede ser de sólo 40 unida-
 des y dar todavía una respuesta satisfactoria de an-
 ticuerpos.

5 A continuación se incluyen algunos ejemplos
 representativos, en los cuales no importa si cada uno
 de los virus es un líquido atenuado o es un producto
 restablecido obtenido agregando agua a una prepara-
 ción liofilizada de esa preparación particular. Ade-
 más de mezclar la preparación líquida de cada uno de
 10 los virus atenuados que hay que incluir, puede utilizarse
 el líquido de una de las preparaciones recién
 atenuadas o de una preparación restaurada para suspen-
 der un virus liofilizado que ha de combinarse con
 15 ellas.

 EJEMPLO 1

Se prepara una vacuna trivalente de dosis única que contiene las siguientes cantidades mínimas:

	<u>Virus</u>	<u>Requisitos U.S.</u>
20	Sarampión	1000 TCID ₅₀
	Paperas	5000 TCID ₅₀
	Rubeola	1000 TCID ₅₀ (propues- actual expe- rimental)

25 Las soluciones de los tres virus atenuados se
 combinan en cantidades relativas suficientes para al-

371256



1 canzar estas proporciones. Después de un mezclado a
rondo, seguido de valoración de cada virus y ajuste
en caso necesario, la mezcla se subdivide en viales
conteniendo de 0,5 a 1,0 ml y se liofiliza para alma-
5 cenamiento o reparto al lugar de uso.

Los virus liofilizados para esta dosis única
son restaurados generalmente con agua suficiente para
llegar a una cantidad total de 0,5 a 1,0 ml, pero para
tener en cuenta el líquido que puede permanecer en el
10 vial y en la aguja, esta cantidad total puede llegar
a ser de 0,7 a 1,2 ml.

Para fines comerciales, normalmente se fabrica
una preparación de dosis múltiples y se introduce en
viales para, por ejemplo, 10 dosis separadas por vial.
15 Para tener en cuenta las pérdidas tales como retención
en el vial y en la aguja hipodérmica o en la pistola
a chorro, un vial de 10 dosis generalmente contendrá
en realidad las cantidades de virus suficientes para
11 dosis y se agregará agua para constituir 11 dosis.

20 El Ejemplo 1 da las cantidades mínimas actuales
establecidas para el sarampión y las paperas y la can-
tidad establecida experimentalmente para la rubeola,
pero puede agregarse a la combinación una cantidad
mayor de cualquiera de ellos. No obstante, es posi-
25 ble que la cantidad mínima establecida en Estados Uni

371256



1 dos pueda ser reducida en el futuro, ya que se sabe
que se puede obtener una respuesta de anticuerpos sa-
tisfactoria con menos unidades TCID₅₀ de cada uno.
Los países extranjeros pueden considerar que es sa-
5 tisfactoria una cantidad considerablemente menor de
virus por dosis, por razones económicas. El invento
puede ser puesto en práctica con las siguientes can-
tidades mínimas de cada uno de los virus, ya que
existe evidencia clínica de que estas unidades TCID₅₀
10 relativamente bajas provocan una respuesta de anti-
cuerpos satisfactoria.

EJEMPLO 2

<u>Virus</u>	<u>Cantidad mínima por dosis</u>
Sarampión	20 TCID ₅₀
15 Paperas	317 TCID ₅₀
Rubeola	40 TCID ₅₀

Resultan evidentes otros ejemplos de vacuna
combinada en los que cada uno de los tres virus se
encuentran presentes en cantidades comprendidas entre
20 las dadas en el Ejemplo 2 y las del Ejemplo 1 y for-
man parte de este invento.

Como se ha indicado anteriormente, el invento
también incluye las vacunas divalentes de dos virus
solamente, seleccionados entre los tres mencionados.
25 Son ejemplos de estas vacunas los siguientes:

371256



1

EJEMPLO 3

Se omite el sarampión del Ejemplo 1 o 2.

EJEMPLO 4

Se omite las paperas del Ejemplo 1 o 2.

5

EJEMPLO 5

Se omite la rubéola del Ejemplo 1 o 2.

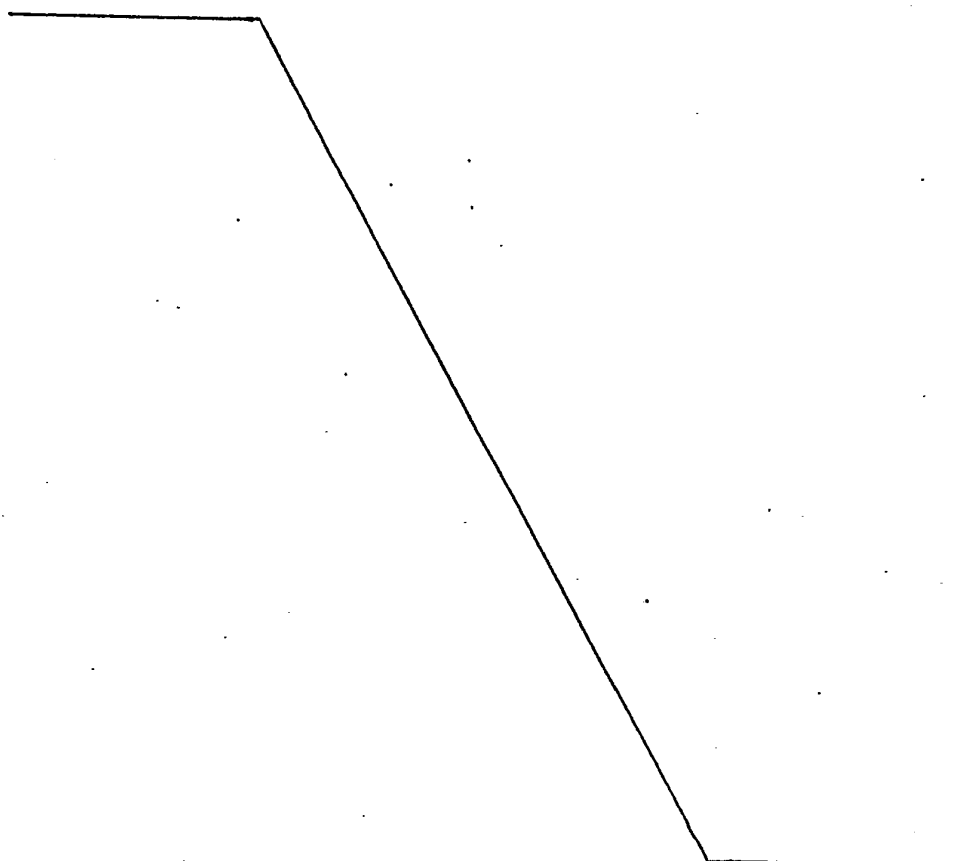
Para demostrar la eficacia de la preparación del Ejemplo 1, fué administrada a unos niños obteniéndose los siguientes resultados:

10

15

20

25



371256



TABLA I
RESPUESTAS SEROLOGICAS ENTRE NIÑOS SERONEGATIVOS QUE HAN RECIBIDO VACUNAS VIVAS COMBINADAS
RESPUESTA DE ANTICUERPOS

Combinación	<u>Sarampión (IH)</u> [⊙]		<u>Paperas (Neut.)</u> [⊙]		<u>Rubeola (IH)</u>	
	<u>Conversión</u> ^{⊙⊙}	<u>M.G.</u> ^{⊙⊙⊙}	<u>Conversión</u>	<u>M.G.</u>	<u>Conversión</u>	<u>M.G.</u>
Sarampión ATTE- NUVAX + MUMFVAX	28/28 (100 %)	51	26/28 (93 %)	8	28/28 (100 %)	134
Rubeola MERUVAX						
Sarampión ATTE- NUVAX + MUMFVAX	37/38 (97 %)	69	37/38 (97 %)	7	-	-
Sarampión RU- BEOVAX + MUMFVAX	13/13 (100 %)	61	10/13 (77 %)	5	-	-

⊙ IH = Inhibición de la hemoaglutinación; neut. = neutralización.

⊙⊙ Conversión = cambio del estado seronegativo al seropositivo.

⊙⊙⊙ M.G. = media geométrica de la concentración de anticuerpos.

371256

371256

TABLA I

RESPUESTAS SEROLOGICAS ENTRE NIÑOS SERONEGATIVOS QUE HAN RI

RESPUESTA DE ANTICUERPOS

Combinación	Sarampión (IH) [⊕]		Paperas (Neu
	Conversión ^{⊕⊕}	M.G. ^{⊕⊕⊕}	Conversión
Sarampión ATTE- NUVAX + MUMPVAX	28/28 (100 %)	51	26/28 (93 %)
Rubeola MERUVAX			
Sarampión ATTE- NUVAX + MUMPVAX	37/38 (97 %)	69	37/38 (97 %)
Sarampión RU- BEOVAX + MUMPVAX	13/13 (100 %)	61	10/13 (77 %)

⊕ IH = Inhibición de la hemoaglutinación; neut. = neutralización.

⊕⊕ Conversión = cambio del estado seronegativo al seropositivo.

⊕⊕⊕ M.G. = media geométrica de la concentración de anticuerpos.

371256



TABLA I

3 ENTRE NIÑOS SERONEGATIVOS QUE HAN RECIBIDO VACUNAS VIVAS COMBINADAS
RESPUESTA DE ANTICUERPOS

Edad (IH)*	<u>Paperas (Neut.)*</u>		<u>Rubeola (IH)</u>		
	<u>M.G.***</u>	<u>Conversión</u>	<u>M.G.</u>	<u>Conversión</u>	<u>M.G.</u>
51		26/28 (93 %)	8	28/28 (100 %)	134
69		37/38 (97 %)	7	-	-
61		10/13 (77 %)	5	-	-

inación; neut. = neutralización.

seronegativo al seropositivo.

concentración de anticuerpos.

71256

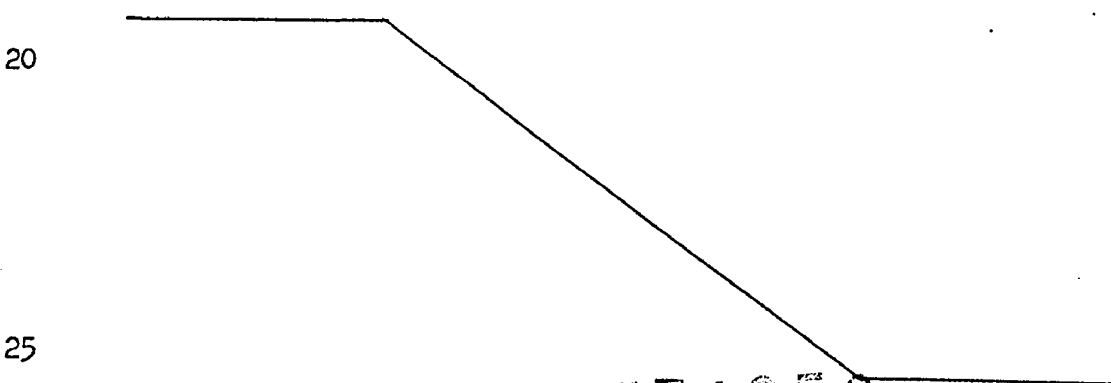
371256



REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de una
vacuna multivalente liofilizada de virus atenuados vi-
vos que contiene por lo menos dos de los virus atenua-
5 dos del sarampión, paperas y rubeola, cuyo procedimien-
to consiste en: (1) mezclar las combinaciones deseadas
de virus, encontrándose por lo menos uno de dichos vi-
rus atenuados en forma licuificada, (2) ajustar la con-
centración de la mezcla por adición de uno o más de dichos
10 virus de forma que cada dosis unidad de 0,5 a 1,0 ml con-
tenga como mínimo 20 TCID₅₀ de virus del sarampión, 317
TCID₅₀ de virus de las paperas y 40 TCID₅₀ de virus de
la rubeola, (3) subdividir dicha mezcla en dosis unidad
y (4) liofilizar.

15 2. Se reivindica por último, como objeto sobre
el que ha de recaer la Patente de Invención que se soli-
cita: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA VACU-
NA MULTIVALENTE".



371256



Todo tal y como queda descrito y reivindicado en la presente Memoria descriptiva que consta de doce páginas mecanografiadas.

Madrid, 5 de setiembre de 1969

BERNARDO UNGRIA
P.P.

5

10

15

20

25

371256