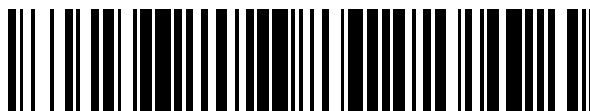


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 660 035**

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 14166489 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.01.2018** **EP 2762163**

54 Título: **Procedimiento de administración de vacuna**

30 Prioridad:

27.12.2006 US 877322 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
20.03.2018

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:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

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

ES 2 660 035 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

Procedimiento de administración de vacuna

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para tratar un perro con enfermedades caninas que comprende administrar a los perros cantidades terapéuticamente efectivas de vacuna, en el que la vacuna comprende antígenos virales, y en el que la vacuna se administra por vía subcutánea u oral de acuerdo con los calendarios proporcionados en la presente memoria.

Antecedentes de la invención

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

20 La CD es una enfermedad viral de alta morbilidad y alta mortalidad que ocurre en poblaciones de perros no vacunados en todo el mundo. Aproximadamente el 50 % de los perros no vacunados, no inmunizados infectados con CDV desarrollan signos clínicos y aproximadamente el 90 % de esos perros mueren (Swango L J. 1983. Norden News 58: 4-10). La HIC, causada por CAV-1, es una enfermedad viral universal, a veces mortal, de perros caracterizada por lesiones endoteliales hepáticas y generalizadas. La enfermedad respiratoria causada por CAV-2, en casos severos, puede incluir neumonía y bronconeumonía. Se ha demostrado que la vacuna CAV-2 muestra protección cruzada contra la ICH causada por CAV-1 (Bass EP, et al., 1980, JAVMA, 177: 234-242). La enfermedad respiratoria superior causada por el virus CPI puede ser leve o subclínica, con signos cada vez más graves si existe una infección concurrente con otros patógenos respiratorios. La enfermedad entérica causada por CPV se caracteriza por la aparición repentina de vómitos y diarrea, a menudo hemorrágica, y puede ir acompañada de leucopenia (Appel M J, et al., 1979, Vet Rec, 105: 156-159).

30 El documento WO 2006/038115 divulga vacunas de combinación que contienen el antígeno *Bordetella bronchiseptica* p68 o *Leptospira bratislava* y otros patógenos caninos, que incluyen CDV, CAV-2 y CPV. Sin embargo, no muestra que los perros se puedan vacunar con éxito mediante la administración oral de las vacunas caninas principales.

35 Las principales compañías de salud animal comercializan las principales vacunas caninas en su franquicia de vacunas de animales de compañía. Sin embargo, todas estas vacunas se administran por vía parenteral, especialmente inyecciones subcutáneas. Una vacuna canina que podría entregarse fácilmente proporcionaría una mayor conveniencia de la administración de la vacuna a la mascota, al veterinario y al dueño de la mascota, y permitiría al personal no entrenado en técnicas de administración parenteral administrar las vacunas caninas principales a los animales.

Sumario de la invención

40 Una vacuna para usar en un procedimiento para vacunar a un perro para las siguientes enfermedades caninas: 1) hepatitis canina infecciosa causada por CAV-1; 2) moquillo canino causado por el virus del moquillo canino (CDV); y 3) enteritis parvoviral canina causada por parvovirus canino (CPV); 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); caracterizado porque la vacuna se administra por vía subcutánea 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 o más dosis anuales, un año después de la primera dosis o de cuatro semanas antes a cuatro semanas después del primer aniversario de la primera dosis.

50 Se proporciona en la presente memoria un procedimiento para tratar un perro para enfermedades caninas que comprende administrar al perro cantidades terapéuticamente eficaces de vacuna, en el que la vacuna comprende antígenos virales, una bacterina, o ambos, y en el 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 virales comprenden uno o más de 1) virus del moquillo canino (CDV), 2) adenovirus canino tipo 2 (CAV-2), 3) virus de la parainfluenza canina (CPI), 4) parvovirus canino (CPV), 5) y coronavirus canino (CCV), y en el que 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.

También se proporciona en la presente memoria un procedimiento para tratar un perro para enfermedades caninas que comprende administrar al perro cantidades terapéuticamente eficaces de vacuna, en el que la vacuna comprende antígenos virales, una bacterina, o ambos, y en el 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.

5 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.

En una realización, la vacuna de la divulgación comprende uno o más virus vivos, uno o más virus vivos modificados, uno o más virus inactivados, o combinaciones de estos.

10 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 por *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. pomona*. En otra realización más, estos cuatro antígenos virales se combinan con una bacterina compuesta de *Bordetella bronchiseptica*. En otra realización más, estos cuatro antígenos virales se combinan con el antígeno CCV y una bacterina compuesta por *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. pomona*.

15 Las enfermedades caninas tratadas comprenden uno o más de los siguientes: 1) CD causado por virus CD; 2) hepatitis canina infecciosa causada por CAV-1; 3) enfermedad respiratoria causada por CAV-2 o CCV respiratorio; 4) CPI causado 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 perrera") causada por *Bordetella bronchiseptica*.

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

25 En una realización, la segunda dosis se administra de 7 a 35 días, inclusive, después de la primera dosis. En una realización más específica, la segunda dosis se administra aproximadamente 3 semanas después de la primera dosis. En otra realización, la tercera dosis se administra de 7 a 35 días, inclusive, después de la segunda dosis. En una realización más específica, la tercera dosis se administra aproximadamente 3 semanas después de la segunda dosis. En otra realización más, la dosis anual se administra un año después de la primera dosis. En aún otra realización, las dosis anuales administradas después de dicha dosis anual se administran repetidamente un año después de la dosis anual inmediatamente anterior.

Breve descripción de los dibujos

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

Figura 2. Respuesta serológica (SN) a CPV (títulos medios). Los animales se trataron como se describe para la FIG. 1. Se tomaron muestras de sangre semanalmente para medir las concentraciones (por ejemplo, títulos) de CPV.

Figura 3. Respuesta serológica (SN) a CAV-1 (títulos medios). Los animales se trataron como se describe para la FIG. 1. Se tomaron muestras de sangre semanalmente para medir las concentraciones (por ejemplo, títulos) de CAV-1.

Descripción detallada de la invención

Definiciones y abreviaturas

45 "Alrededor" o "aproximadamente", cuando se utiliza en relación con una variable numérica mensurable, 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 % del intervalo de confianza para la media) o dentro del 10 por ciento del valor indicado, el que sea mayor, a menos que se use en referencia a intervalos de tiempo en semanas donde "alrededor de 3 semanas" es de 17 a 25 días y alrededor de 2 a alrededor de 4 semanas es de 10 a 40 días.

50 "Adyuvante" significa una sustancia o composición farmacéuticamente aceptable que aumenta la respuesta inmune a un antígeno.

"Anticuerpo" se refiere a una molécula de inmunoglobulina que se puede unir a un antígeno específico como resultado de una respuesta inmune 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) basadas en la composición de las regiones constantes.

“Antígeno” o “inmunógeno” se refiere a una molécula que contiene uno o más epítomos (lineales, conformacionales o ambos) que tras la exposición a un sujeto inducirán una respuesta inmune que es específica para ese antígeno. Un epítomo es el sitio específico del antígeno que se une a un receptor de células T o anticuerpo específico, y típicamente comprende aproximadamente 3 residuos de aminoácidos 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 anticuerpos, tales como anticuerpos antiidiotipo o fragmentos de estos, y a mimotopos peptídicos sintéticos que pueden imitar un antígeno o determinante antigénico (epítomo).

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

“Dosis” se refiere a una vacuna o composición inmunogénica dada a un sujeto. 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 después de la primera dosis, que puede ser o no la misma vacuna o composición inmunogénica que la primera dosis.

La “respuesta inmune” en un sujeto se refiere al desarrollo de una respuesta inmune humoral, una respuesta inmune celular o una respuesta inmune humoral y celular a un antígeno. Una “respuesta inmune humoral” se refiere a una que está mediada por anticuerpos. Una “respuesta inmune 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 ambas. Las respuestas inmunes pueden determinarse usando inmunoensayos estándar y ensayos de neutralización, que son conocidos en la técnica.

“Cantidad inmunológicamente protectora” o “cantidad efectiva para producir una respuesta inmune” de un antígeno es una cantidad efectiva para inducir una respuesta inmunogénica en el receptor. La respuesta inmunogénica puede ser suficiente para fines de diagnóstico u otras pruebas, o puede ser adecuada para prevenir signos o síntomas de enfermedad, incluidos efectos adversos para la salud o complicaciones de estos, causados por la infección con un agente patógeno. Se puede inducir la inmunidad humoral o la inmunidad mediada por células o ambas. La respuesta inmunogénica de un animal a una composición inmunogénica puede evaluarse, por ejemplo, indirectamente a través de la medición de títulos de anticuerpos, ensayos de proliferación de linfocitos o directamente a través de signos y síntomas de seguimiento después de la inoculación con la cepa tipo silvestre, mientras que la inmunidad protectora conferida por una vacuna puede ser evaluada midiendo, por ejemplo, la reducción de los signos clínicos tales como la mortalidad, la morbilidad, el valor de la temperatura, el estado físico general y la salud y el rendimiento general del sujeto. La respuesta inmune puede comprender, sin limitación, inducción de inmunidad celular y/o humoral.

“Inmunogénico” significa evocar una respuesta inmune o antigénica. Por lo tanto, una composición inmunogénica sería cualquier composición que induzca una respuesta inmune.

“Intranasal” significa dentro de la nariz. Por lo tanto, la administración intranasal se refiere a la introducción de una sustancia, tal como una vacuna, en el cuerpo de un sujeto a través o por la nariz, como ocurriría, por ejemplo, colocando una o más gotas en la nariz. Implica el transporte de la sustancia principalmente a través de la mucosa nasal y nasofaríngea.

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

La administración “oral” o “peroral” se refiere a la introducción de una sustancia, como una vacuna, en el cuerpo de un sujeto a través o por medio de la boca y consiste en tragar o transportarla a través de la mucosa oral (por ejemplo, absorción sublingual o bucal) o ambos.

La administración “Oronasal” se refiere a la introducción de una sustancia, como una vacuna, en el cuerpo de un sujeto a través o por 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 con la administración oral e intranasal.

La “administración parenteral” se refiere a la introducción de una sustancia, como una vacuna, en el cuerpo de un sujeto a través de una ruta que no incluye el tracto digestivo. La administración parenteral incluye administración subcutánea, administración intramuscular, administración transcutánea, administración intradérmica, administración intraperitoneal, administración intraocular y administración intravenosa. Para los fines de esta divulgación, la administración parenteral excluye las vías de administración que implican principalmente el transporte de la sustancia a través del tejido de la mucosa en la boca, la nariz, la tráquea y los pulmones.

“Farmacéuticamente aceptable” se refiere a sustancias, que están dentro del alcance de un juicio médico sólido, adecuadas para el uso en contacto con los tejidos de sujetos sin toxicidad indebida, irritación, respuesta alérgica y similar, acorde con una relación razonable beneficio riesgo, y efectivo para su uso previsto.

“Sujeto” se refiere a un canino.

“TCID₅₀” se refiere a “dosis infectiva de cultivo tisular” y se define como la dilución de un virus requerida para infectar el 50 % de un lote dado de cultivos celulares inoculados. Se pueden usar diversos procedimientos conocidos por un experto en la técnica para calcular TCID₅₀, que incluye el procedimiento Spearman-Kärber que se utiliza a lo largo de esta memoria descriptiva. Para una descripción del procedimiento de 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 la cantidad de un antígeno o vacuna que induciría una respuesta inmune en un sujeto que recibe el antígeno o vacuna que es adecuado para prevenir signos o síntomas de enfermedad, incluyendo efectos de la salud adversa o complicaciones de estos, causados por la infección con un patógeno, como un virus o una bacteria. Se puede inducir la inmunidad humoral o la inmunidad mediada por células o la inmunidad tanto humoral como mediada por células. La respuesta inmunogénica de un animal a una vacuna puede evaluarse, por ejemplo, indirectamente a través de la medición de títulos de anticuerpos, ensayos de proliferación de linfocitos o directamente a través de signos y síntomas de monitorización después de la prueba con cepa de tipo silvestre. La inmunidad protectora conferida por una vacuna se puede evaluar midiendo, por ejemplo, la reducción de los signos clínicos tales como la mortalidad, la morbilidad, el valor de temperatura, el estado físico general y la salud y el rendimiento general del sujeto. La cantidad de una vacuna que es terapéuticamente efectiva puede variar dependiendo del virus particular usado, o la condición del sujeto, y puede ser determinada por un médico veterinario.

“Tratar” se refiere a la prevención de un trastorno, afección o enfermedad a la que se aplica dicho término; o para prevenir uno o más síntomas de dicho trastorno, afección o enfermedad; o para revertir, aliviar o inhibir el progreso de tal trastorno, condición o enfermedad.

“Tratamiento” se refiere al acto de “tratar” como se definió anteriormente.

“Vacuna” se refiere a una composición que incluye un antígeno, como se define en la presente memoria. La administración de la vacuna a un sujeto da como resultado una respuesta inmune, generalmente contra una o más enfermedades específicas. La cantidad de una vacuna que es terapéuticamente efectiva puede variar dependiendo del virus particular usado, o la condición del perro, y puede ser determinada por un médico veterinario. La vacuna puede introducirse directamente en el sujeto por las vías de administración subcutánea, oral, oronasal o intranasal.

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

Descripción de la invención

Se proporciona en este documento un régimen de vacunación que reduce la morbilidad y la mortalidad en animales, y proporciona una mayor facilidad de administración de vacunas para mascotas, veterinarios y propietarios de animales. Es muy conveniente administrar vacunas usando procedimientos que no requieren inyección cuando los animales son mayores. Además, las vacunas orales son probablemente menos propensas a inducir efectos secundarios indeseables que pueden observarse después de las vacunaciones parenterales. Las vacunas orales pueden administrarse por individuos no entrenados en la administración de materiales por vía parenteral (es decir, a través de una aguja y una jeringa), aumentando así la frecuencia probable de vacunación y protección contra la enfermedad.

La divulgación proporciona procedimientos para vacunar a un perro con vacuna o composición inmunogénica como ayuda para prevenir o tratar enfermedades causadas por cepas virales virulentas o bacterianas, que incluyen pero no se limitan a 1) moquillo canino (CD) causado por el virus del moquillo canino (CD); 2) hepatitis canina infecciosa (ICH) causada por adenovirus canino tipo 1 (CAV-1); 3) enfermedad respiratoria causada por adenovirus canino tipo 2 (CAV-2); 4) parainfluenza canina causada por el virus de parainfluenza canina (CPI) y 5) enteritis parvoviral canina causada por parvovirus canino (CPV). Otras enfermedades caninas como se indica a continuación también pueden tratarse..

Los procedimientos comprenden administrar al perro cantidades terapéuticamente eficaces de una primera dosis, una segunda dosis, y opcionalmente, una tercera dosis de una composición que es capaz de inducir una respuesta inmune en el sujeto. La administración también se da un año después de la primera dosis como un refuerzo anual. La primera dosis puede administrarse por vía subcutánea. La segunda dosis se administra por vía oral *N* días después de la administración de la primera vacuna. En la presente memoria, *N* es un número entero de 7 a 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 aproximadamente 2 a aproximadamente 4 semanas, siendo el intervalo preferido de aproximadamente 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 7 a 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 aproximadamente 2 a aproximadamente 4 semanas, siendo el intervalo preferido de aproximadamente 3 semanas. Por lo tanto, desde el Día 0 (día de la administración de la primera dosis) M sería un número entero de aproximadamente 28 a aproximadamente 56, inclusive, pero típicamente es un número entero de aproximadamente 35 a aproximadamente 49, inclusive. El intervalo entre la primera y la tercera dosis también puede ser de aproximadamente 5 a aproximadamente 7 semanas, siendo el intervalo preferido de aproximadamente 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. En general, esta dosis se da desde cuatro semanas antes hasta cuatro semanas después del primer aniversario de la primera vacuna. El veterinario a cargo determinará la necesidad y la frecuencia de cualquier vacuna de refuerzo posterior en función del estilo de vida del animal y el riesgo de exposición.

Los procedimientos pueden emplear cualquier vacuna que sea capaz de inducir una respuesta inmune en un perro. La vía de administración para las vacunas incluye subcutánea, oral, oronasal e intranasal. La primera vacuna está adaptada para administrarse por vía oral o subcutánea. La segunda, tercera y las dosis anuales están adaptadas para administrarse oralmente. Se puede usar cualquier dispositivo adecuado para administrar las vacunas, incluyendo jeringas, cuentagotas, dispositivos de inyección sin aguja y similares. Para la administración oral, se puede usar una jeringa con una cánula para colocar una dosis de la vacuna en la boca del perro.

La primera, segunda, tercera y dosis anuales pueden ser las mismas o diferentes vacunas o composición inmunogénica y cada una comprende, independientemente, uno o más antígenos. Las vacunas se basan en virus vivos o muertos y cepas bacterianas muertas. Las vacunas útiles incluyen así vacunas de virus vivos, vacunas de virus vivos modificados y vacunas de virus inactivados, ya sea solos o en combinación de estos. Las vacunas vivas y de vivas modificadas contienen cepas que no causan enfermedad en perros y se han aislado en forma no virulenta o se han atenuado usando procedimientos bien conocidos en la técnica, incluido el pase seriado en una línea celular adecuada o la exposición a luz ultravioleta o un mutágeno químico. Las vacunas inactivadas o muertas contienen cepas que se han inactivado por procedimientos conocidos, que incluyen tratamiento con formalina, betapropiolactona (BPL), etilenimina binaria (BEI) u otros procedimientos conocidos por los expertos en la técnica.

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

Para las vacunas que contienen virus vivos modificados o virus atenuados, una dosis terapéuticamente eficaz generalmente varía de aproximadamente 10^2 TCID₅₀ a aproximadamente 10^{10} TCID₅₀, inclusive. Para virus específicos, una dosis terapéuticamente efectiva está generalmente en los siguientes intervalos: para virus CD, de aproximadamente 10^2 TCID₅₀ a aproximadamente 10^8 TCID₅₀, inclusive; o de aproximadamente 10^3 TCID₅₀ a aproximadamente 10^6 TCID₅₀, inclusive; o de aproximadamente 10^4 TCID₅₀ a aproximadamente 10^5 TCID₅₀, inclusive; para CAV-2, desde aproximadamente 10^2 TCID₅₀ hasta aproximadamente 10^8 TCID₅₀, inclusive; o de aproximadamente 10^3 TCID₅₀ a aproximadamente 10^6 TCID₅₀, inclusive; o de aproximadamente 10^4 TCID₅₀ a aproximadamente 10^5 TCID₅₀, inclusive; para CPV, de aproximadamente 10^3 TCID₅₀ a aproximadamente 10^{10} TCID₅₀, inclusive; o de aproximadamente 10^6 TCID₅₀ a aproximadamente 10^9 TCID₅₀, inclusive; o de aproximadamente 10^7 TCID₅₀ a aproximadamente 10^8 TCID₅₀, inclusive; y para el virus CPI, de aproximadamente 10^3 TCID₅₀ a aproximadamente 10^{10} TCID₅₀, inclusive; o de aproximadamente 10^5 TCID₅₀ a aproximadamente 10^9 TCID₅₀, inclusive; o de 10^6 TCID₅₀ a aproximadamente 10^8 TCID₅₀, inclusive. La cantidad de CCV en una preparación viral inactivada debe ser de al menos aproximadamente 100 unidades relativas por dosis, y preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 4.500 unidades relativas por dosis.

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

inclusive; o de aproximadamente 3×10^7 a aproximadamente 3×10^{10} células inclusive; o de aproximadamente 3×10^8 a aproximadamente 3×10^9 células inclusive.

Otros componentes de las vacunas pueden incluir excipientes farmacéuticamente aceptables, que incluyen vehículos, disolventes y diluyentes, agentes isotónicos, agentes tamponantes, estabilizadores, conservantes, agentes inmunomoduladores (por ejemplo, interleuquinas, interferones y otras citocinas), agentes vasoconstrictores, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos, y similares. Los vehículos, disolventes y diluyentes típicos incluyen agua, solución salina, dextrosa, etanol, glicerol y similares. Los agentes isotónicos representativos incluyen cloruro de sodio, dextrosa, manitol, sorbitol, lactosa y similares. Los estabilizantes útiles incluyen gelatina, albúmina y similares.

Como se usa en el presente documento, "un vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, adyuvantes, agentes estabilizantes, diluyentes, conservantes, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos, agentes de retardo de la adsorción y similares. El(los) vehículo(s) debe(n) ser "aceptable"(s) en el sentido de ser compatible con los componentes de la invención y no perjudicial para el sujeto a ser inmunizado. Típicamente, los vehículos serán estériles y libres de pirógenos, y se seleccionarán según el modo de administración que se utilizará. Los expertos en la técnica saben bien que las formulaciones preferidas para el vehículo farmacéuticamente aceptado que comprende las vacunas son aquellos vehículos aprobados en las regulaciones aplicables promulgadas por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (US) o una agencia gubernamental equivalente en un país no estadounidense. Por lo tanto, el vehículo farmacéuticamente aceptado para la producción comercial de las vacunas es un vehículo que ya está aprobado o será aprobado por la agencia gubernamental correspondiente en los Estados Unidos o en un país extranjero.

Las composiciones de vacuna opcionalmente pueden incluir diluyentes líquidos, semisólidos o sólidos farmacéuticamente aceptables (es decir, estériles y no tóxicos) compatibles con vacunas que sirven como vehículos, 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 albúmina, entre otros.

Las vacunas pueden mezclarse adicionalmente con uno o más adyuvantes que son farmacéuticamente aceptables. Muchos de tales adyuvantes son conocidos en la técnica. Los adyuvantes representativos incluyen adyuvantes basados en aceite, tales como Adyuvante Completo de Freund y Adyuvante Incompleto de Freund, adyuvantes basados en micolato (por ejemplo, trehalosa dimicolato), lipopolisacáridos bacterianos, peptidoglucanos (es decir, mureínas, mucopéptidos o glicoproteínas tales como N-Opaca, dipéptido de muramilo o análogos de los mismos), proteoglicanos (por ejemplo, extraídos de *Klebsiella pneumoniae*), preparaciones de estreptococos (por ejemplo, OK432), BIOSTIM® (por ejemplo, 01 K2), Iscom (por ejemplo, véanse las solicitudes de patente europea números EP 109942, EP 180564 y EP 231039), hidróxido de aluminio, saponina, dietilaminoetil (DEAE)-dextrano, aceites neutros (por ejemplo, migliol), aceites vegetales (por ejemplo, aceite de cacahuete), liposomas, polioles PLURONIC®. Otros adyuvantes incluyen el sistema adyuvante RIBI, alúmina, gel de hidróxido de aluminio, colesterol, emulsiones de aceite en agua, emulsiones de agua en aceite, copolímero de bloque (CytRx, Atlanta Ga.), SAF-M (Chiron, Emeryville Ca), lecitina en aceite (por ejemplo, adyuvante AMPHIGEN®), saponina, Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge Ma), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, Al) u otras fracciones de saponina, monofosforil lípido A, adyuvante lípido-amina de Avridina, enterotoxina termolábil de *Escherichia coli* (recombinante o no), toxina del cólera o dipéptido de muramilo, entre otros.

Las composiciones inmunogénicas pueden incluir adicionalmente uno o más agentes inmunomoduladores diferentes tales como, por ejemplo, interleuquinas, interferones u otras citocinas. Las composiciones inmunogénicas también pueden contener antibióticos, que incluyen gentamicina y mertiolato.

Los tamaños de las dosis de las vacunas suelen oscilar entre aproximadamente un décimo de ml y aproximadamente cinco ml, inclusive. Por lo general, se usa una dosis de aproximadamente un ml para las vacunas orales. Cada dosis contiene una cantidad terapéuticamente efectiva del antígeno o antígenos que puede variar dependiendo 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 otros componentes de las vacunas se pueden ajustar para modificar las propiedades físicas y químicas de las vacunas, y el experto en la materia puede determinarlas fácilmente. Por ejemplo, los adyuvantes típicamente comprenden de aproximadamente 25 µg a aproximadamente 1000 µg, inclusive, de una dosis de un ml. De manera similar, los antibióticos comprenden típicamente de aproximadamente un µg a aproximadamente 60 µg, inclusive, de una dosis de un ml.

Un experto en la técnica puede formular fácilmente una vacuna. Las vacunas se proporcionan estériles y libres de pirógenos. Las composiciones inmunogénicas pueden prepararse en diversas formas dependiendo de la ruta de administración, los requisitos de almacenamiento y similares. Por ejemplo, las composiciones inmunogénicas pueden prepararse en forma de soluciones o dispersiones acuosas estériles adecuadas para su uso inyectable, o fabricadas en formas liofilizadas usando técnicas de liofilización. Las composiciones inmunogénicas liofilizadas pueden reconstituirse antes de su uso en una solución estabilizante, por ejemplo, solución salina y/o HEPES, con o sin adyuvante.

Los sujetos adecuados para la vacunación incluirían perros que tienen aproximadamente cuatro semanas de edad o más. Por lo tanto, la primera dosis se le daría a un perro aproximadamente a las cuatro semanas de edad, seguido de dosis posteriores de acuerdo con el cronograma dado en la presente memoria. Ciertas vacunas preparadas comercialmente proporcionan instrucciones para el momento de la administración y el número de dosis en función del potencial de interferencia de anticuerpos maternos. Por ejemplo, la etiqueta del producto para VANGUARD® Plus 5 L4 (Pfizer Inc) indica que a los perros que reciben la primera vacuna a menos de 9 semanas de edad se les debe administrar una tercera dosis oral de un ml aproximadamente tres semanas después de una segunda dosis.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos están destinados a ser ilustrativos y no limitativos, y representan algunas realizaciones específicas de la presente divulgación.

Ejemplo 1. Este estudio evaluó la capacidad de una vacuna viva modificada para causar seroconversión (por ejemplo, pasar de un estado de no tener anticuerpos a un estado de tener concentraciones relativamente altas de anticuerpos a antígenos específicos) cuando una vacuna se administró por vía subcutánea en una primera dosis, luego 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 crías entre las edades de 6 y 9 semanas al inicio del estudio que no tenían anticuerpos para CAV-1, CPV o CDV se dividieron aleatoriamente en tres grupos de tratamiento de 11 perros cada uno. Los perros en el grupo de tratamiento T01 recibieron la vacuna placebo tres veces, con tres semanas de diferencia. Este grupo de tratamiento se incluyó para garantizar que los animales no estuvieran expuestos a virus de interés de ninguna manera excepto a través de la vacunación experimental. Los animales en los grupos de tratamiento T02 y T03 recibieron vacunas experimentales primero por vía subcutánea (en el día 0), luego la misma vacuna por vía oral tres semanas (día 21) y seis semanas (día 42) más tarde. La única diferencia entre T02 y T03 fue la cantidad de virus en las vacunas administradas, con T02 recibiendo una dosis relativamente baja y T03 recibiendo una dosis relativamente alta. Se tomaron muestras de sangre semanalmente para medir las concentraciones (por ejemplo, títulos) de anticuerpos específicos. Las muestras de suero se analizaron para anticuerpos séricos contra CDV, CPV y CAV1 de acuerdo con procedimientos estándar. Presentado en las Tablas 1 y 2 son detalles del diseño experimental y del producto veterinario en investigación (IVP).

Tabla 1. Diseño experimental

Grupo	N	Vacunación			Recolección de Suero
		Día 0	Día 21	Día 42	
Control Negativo T01	11	Solución salina SQ	Solución salina Oral	Solución salina Oral	Días 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, y 63
T02	11	título SQ “bajo”	Título Oral “bajo”	Título Oral “bajo”	
T03	11	título SQ “alto”	Título Oral “alto”	Título Oral “alto”	
SQ = subcutáneo					

Tabla 2. Producto veterinario de investigación (IVP)

IVP	Vacuna Serial	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 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 en título relativamente alto	L031006C	CDV: 4,7 CAV ₂ : 4,2 CPV: 8,0 CPI: 7,9	T01 = 0 T02 = 0 T03 = 33 Total = 33	Aprox. 1 ml

5 Todos los animales en T01 permanecieron esencialmente libres de anticuerpos contra los antígenos de interés, lo que indica que no hubo exposición ambiental a estos virus. Los animales en T02 y T03 respondieron de manera similar a las vacunas, lo que indica que la dosis no influyó significativamente en los patrones de respuestas. Independientemente del antígeno, los animales que recibieron la vacuna experimental (grupos T02 y T03) respondieron con firmeza a la primera dosis de vacuna (administrada por vía subcutánea). Para comparación y perspectiva, los animales se consideran protegidos de la enfermedad cuando tienen títulos de anticuerpos mayores o iguales a 1:16 para CAV-1, 1:32 para CDV y 1:80 para CPV.

10 Los anticuerpos específicos de CDV alcanzaron su punto máximo 28 días después de la primera vacunación, con títulos medios de 1:3499 y 1:3668 para T02 y T03 respectivamente (véase la Figura 1). En el caso de los títulos específicos de CDV después de la vacunación subcutánea, esta concentración de anticuerpos puede haber sido lo suficientemente alta como para interferir con la capacidad de los animales para reaccionar posteriormente a las vacunas administradas por vía oral. Los anticuerpos específicos contra el 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 el día 36) para perros en T02 y una semana después de la primera vacunación oral (título medio de 1:5613 en el día 28) para perros en T03 (véase la figura 2).

15 Debido a las diferencias en el tiempo entre las concentraciones máximas de CDV y CPV, este patrón podría interpretarse como una respuesta inmune a la vacunación oral, aunque los títulos iniciales altos de anticuerpos nuevamente dificultan la interpretación. Sin embargo, los anticuerpos específicos contra CAV-1 indican claramente que existe una respuesta inmune robusta a la dosificación oral para este antígeno (véase la Figura 3). El día de la primera vacunación oral, día 21, los animales en T02 tenían títulos medios de anticuerpos específicos de CAV-1 de 1:5, y los de T03 tenían títulos medios de 1:16. Dos semanas más tarde, 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 segunda 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 CAV-1 son más bajos que los otros dos antígenos, lo que puede haber disminuido la probabilidad de interferencia causada por la vacunación subcutánea.

20 Mientras altos títulos de anticuerpos específicos para CDV y CPV después de una vacunación subcutánea aclaran la interpretación 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 práctica y potencialmente efectiva de administración de vacunas para perros.

25 **Ejemplo 2.** Este estudio evaluó la capacidad de una vacuna viva modificada para causar seroconversión (por ejemplo, pasar de un estado de no tener anticuerpos a un estado de tener concentraciones relativamente altas de anticuerpos a antígenos específicos) cuando una vacuna se administró por vía subcutánea u oral en una primera dosis, luego por vía oral en una segunda y tercera dosis.

Treinta y nueve cachorros, entre las edades de 6 y 10 semanas al inicio del estudio, y que no tienen anticuerpos para Adenovirus Canino-Tipo 1 (CAV-1), Parvovirus Canino (CPV), Virus con Moquillo Canino (CDV), o

Parainfluenza canina (CPI), se dividieron aleatoriamente en tres grupos de tratamiento de 13 perros cada uno. Los perros en el grupo de tratamiento T01 recibieron oralmente la vacuna placebo tres veces, con tres semanas de diferencia. Este grupo de tratamiento se incluyó para garantizar que los animales no estuvieran expuestos a virus de interés de ninguna manera, sino mediante vacunación experimental. Los animales del grupo de tratamiento T02 recibieron oralmente la misma vacuna experimental los días 0, 21 y 42. A los animales en el grupo de tratamiento T03 se les administró vacuna experimental por vía subcutánea el día 0, luego la misma vacuna por vía oral tres semanas (día 21) y seis semanas (día 42) más tarde. 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 (por ejemplo, títulos) de anticuerpos específicos. Las muestras de suero se analizaron para anticuerpos séricos contra CDV, CPV y CAV-1 de acuerdo con procedimientos estándar. (Los animales vacunados con CAV-2 generan anticuerpos de reactividad cruzada con CAV-1). Los animales se consideraron respondedores positivos (es decir, protegidos de la enfermedad) si tenían títulos de anticuerpos mayores o iguales a 1:16 para CAV-1, 1:32 para CDV y 1:16 para CPV. Presentado en los cuadros 3 y 4 son detalles del diseño experimental y el producto veterinario de investigación (IVP).

Tabla 3. Diseño experimental

Grupo	N	Vacunación			Recolección de suero
		Día 0	Día 21	Día 42	
T01 Control negativo	13	Vehículo Oral	Vehículo Oral	Vehículo Oral	Días 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, y 63
T02	13	IVP Oral	IVP Oral	IVP Oral	
T03	13	IVP SQ	IVP Oral	IVP Oral	
SQ = subcutáneo					
IVP = Producto veterinario de investigación					

Tabla 4. Producto veterinario de investigación (PIV)

IVP	Vacuna Serial	Títulos virales de entrada aproximados por dosis (log)	Número de dosis	Volumen por dosis
CDV-CAV ₂ -CPV-CPI A título alto	L25Aug06C mas 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

Tal como se presenta en la Tabla 5, todos los animales del grupo T03 (SQ, oral, oral) experimentaron una seroconversión frente a los tres virus medidos en el día 63. Todos los animales en el grupo T02 (oral, oral, oral) seroconvirtieron contra CPV y CAV-1 en el día 63. Aproximadamente la mitad de los animales en el grupo T02 se seroconvirtieron a CDV el día 63, lo que sugiere que pueden ser posibles cambios en la formulación actual. Por lo tanto, estos resultados demuestran que la dosificación oral es un enfoque efectivo para la vacunación.

Tabla 5. Resultados de la seroconversión

Seroconversión Resultados		Día del 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 con moquillo canino-Adenovirus Tipo 2-Parainfluenza-Parvovirus. 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 tal vacuna es VANGUARD® Plus 5 (Pfizer Inc). Esta vacuna contiene cepas atenuadas de virus CD (aproximadamente 10^5 TCID₅₀), CAV 2 (aproximadamente 10^4 TCID₅₀), virus CPI (aproximadamente 10^8 TCID₅₀) y CPV (aproximadamente 10^8 TCID₅₀) propagado 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, ya sea por vía oral o subcutánea. A los perros se les administra oralmente una segunda dosis de 1 ml aproximadamente tres semanas después de la primera vacuna, seguida de una tercera dosis de 1 ml administrada por vía oral aproximadamente a las tres semanas después de la segunda dosis. A los perros se les administra una vacuna de refuerzo anual de 1 ml administrada por vía oral alrededor de un año después de la primera vacuna. El veterinario a cargo determina la necesidad y la frecuencia de cualquier vacuna de refuerzo posterior en función del estilo de vida y el riesgo de exposición del animal.

Ejemplo 4. Este ejemplo teórico describe la administración a perros de una vacuna de virus vivo modificada con moquillo canino-Adenovirus Tipo 2-Parainfluenza-Parvovirus que contiene una Bacterina de *Leptospira Canicola-Grippytyphosa-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 tal vacuna es VANGUARD® Plus 5 L4 (Pfizer Inc). Esta vacuna es una preparación liofilizada de cepas atenuadas de virus CD (aproximadamente 10^5 TCID₅₀), CAV 2 (aproximadamente 10^4 TCID₅₀), virus CPI (aproximadamente 10^8 TCID₅₀), CPV (aproximadamente 10^8 TCID₅₀) y cultivos enteros inactivados de *L. canicola*, *L. grippytyphosa*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. pomona*. Se usa un gel estéril con adyuvante para rehidratar el componente liofilizado, que se empaqueta 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, ya sea por vía oral o subcutánea. A los perros se les administra oralmente una segunda dosis de 1 ml aproximadamente tres semanas después de la primera. Los perros que reciben la primera vacuna a menos de 9 semanas de edad reciben una tercera dosis de 1 ml administrada por vía oral aproximadamente a las tres semanas después de la segunda dosis. A los perros se les administra una vacuna de refuerzo anual de 1 ml administrada por vía oral alrededor de un año después de la primera vacuna. El veterinario a cargo determina la necesidad y la frecuencia de cualquier vacuna de refuerzo posterior en función del estilo de vida del animal y el riesgo de exposición.

Ejemplo 5. Este ejemplo teórico describe la administración a perros de una vacuna contra el moquillo canino-Adenovirus Tipo 2-Parainfluenza-Parvovirus que contiene una Bacterina de *Leptospira Canicola-Grippytyphosa-Icterohaemorrhagiae-Pomona*.

Se rehidrata asépticamente una vacuna liofilizada de virus vivo modificado con moquillo canino-Adenovirus Tipo 2-Parainfluenza-Parvovirus que contiene una Bacterina de *Leptospira Canicola-Grippytyphosa-Icterohaemorrhagiae-Pomona* (por ejemplo, VANGUARD® Plus 5 L4, véase el Ejemplo 4) con una vacuna líquida de coronavirus y

agitada bien, de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta. Un ejemplo de tal vacuna de 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.

- 5 A los perros sanos de 4 semanas de edad o más se les administra una primera vacuna de 1 ml de la vacuna reconstituida, ya sea por vía oral o subcutánea. A los perros se les administra oralmente una segunda dosis de 1 ml de la vacuna combinada aproximadamente tres semanas después de la primera vacuna. A los perros se les administra oralmente una dosis de 1 ml de la vacuna contra el coronavirus aproximadamente 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 oral de 1 ml de la vacuna combinada (en lugar de la vacuna contra el coronavirus) aproximadamente tres semanas después de la segunda vacuna. A los perros se les administra un refuerzo anual de 1 ml administrado por vía oral de la vacuna combinada alrededor de un año después de la vacuna de cebado. El veterinario a cargo determina la necesidad y la frecuencia de cualquier vacuna de refuerzo posterior en función del estilo de vida del animal y el riesgo de exposición.

- 15 **Ejemplo 6.** Este ejemplo teórico describe la administración a perros de una vacuna de virus vivo modificado con moquillo canino-Adenovirus Tipo 2-Parainfluenza-Parvovirus 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 tal vacuna es VANGUARD® Plus 5 (ver Ejemplo 4). Un ejemplo de tal diluyente es una preparación líquida de un cultivo inactivado de *B. bronchiseptica*.

- 20 A los perros sanos de 4 semanas de edad o más se les administra una primera vacuna de 1 ml de la vacuna reconstituida, ya sea por vía oral o subcutánea. A los perros se les administra oralmente una segunda dosis de 1 ml de la vacuna desde aproximadamente dos hasta aproximadamente 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 oral de 1 ml de la vacuna aproximadamente a los cuatro meses de edad. A los perros se les administra un refuerzo anual de 1 ml administrado por vía oral de alrededor de un año después de la vacuna de cebado. Las vacunas de refuerzo orales de 1 ml posteriores se administran anualmente. Cuando es probable la exposición al *B. bronchiseptica* y al virus canino, como situaciones de reproducción, abordaje y exposición, se puede indicar un refuerzo adicional o la revacunación anual se debe programar de 2 a 4 semanas antes de estos eventos.

- 30 Todos los procedimientos descritos y reivindicados en la presente memoria pueden ejecutarse sin una experimentación excesiva a la luz de la presente divulgación.

REIVINDICACIONES

1. Una vacuna para su uso en un procedimiento para vacunar a un perro para las siguientes enfermedades caninas: 1) hepatitis canina infecciosa causada por CAV-1; 2) moquillo canino causado por el virus del moquillo canino (CDV); y 3) enteritis parvoviral canina causada por parvovirus canino (CPV); 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); **caracterizada porque** la vacuna se administra por vía subcutánea 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 o más dosis anuales, un año después de la primera dosis o de cuatro semanas antes a cuatro semanas después del primer aniversario de la primera dosis.
2. La vacuna para su uso según la reivindicación 1, en la que las dosis anuales administradas después de dicha dosis anual se administran repetidamente un año después de la dosis anual inmediatamente anterior.
3. La vacuna para su uso según la reivindicación 1, en la que se administra la tercera dosis.
4. La vacuna para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el tamaño de la dosis es de 0,1 ml a 5 ml, inclusive.
5. La vacuna para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que las enfermedades caninas comprenden adicionalmente parainfluenza canina causada por virus de parainfluenza canina (CPI) y la vacuna comprende adicionalmente virus de parainfluenza canina viva (CPI) modificado.
6. La vacuna para su uso de acuerdo con una 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, 10^2 TCID₅₀ a 10^8 TCID₅₀, inclusive; para CAV-2, 10^2 TCID₅₀ a 10^8 TCID₅₀, inclusive; para CPV, 10^3 TCID₅₀ a 10^{10} TCID₅₀, inclusive; y para el virus CPI, 10^3 TCID₅₀ a 10^{10} TCID₅₀, inclusive;
 - (b) los virus vivos modificados están presentes en los siguientes intervalos de cantidades: para 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 para el virus CPI, 10^5 TCID₅₀ a 10^9 TCID₅₀, inclusive; o
 - (c) los virus vivos modificados están presentes en los siguientes rangos de cantidades: para 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 para el virus CPI, 10^6 TCID₅₀ a 10^8 TCID₅₀, inclusive.
7. La vacuna para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la segunda dosis se administra 17-25 días después de la primera dosis.
8. La vacuna para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la tercera dosis se administra 17-25 días después de la segunda dosis.

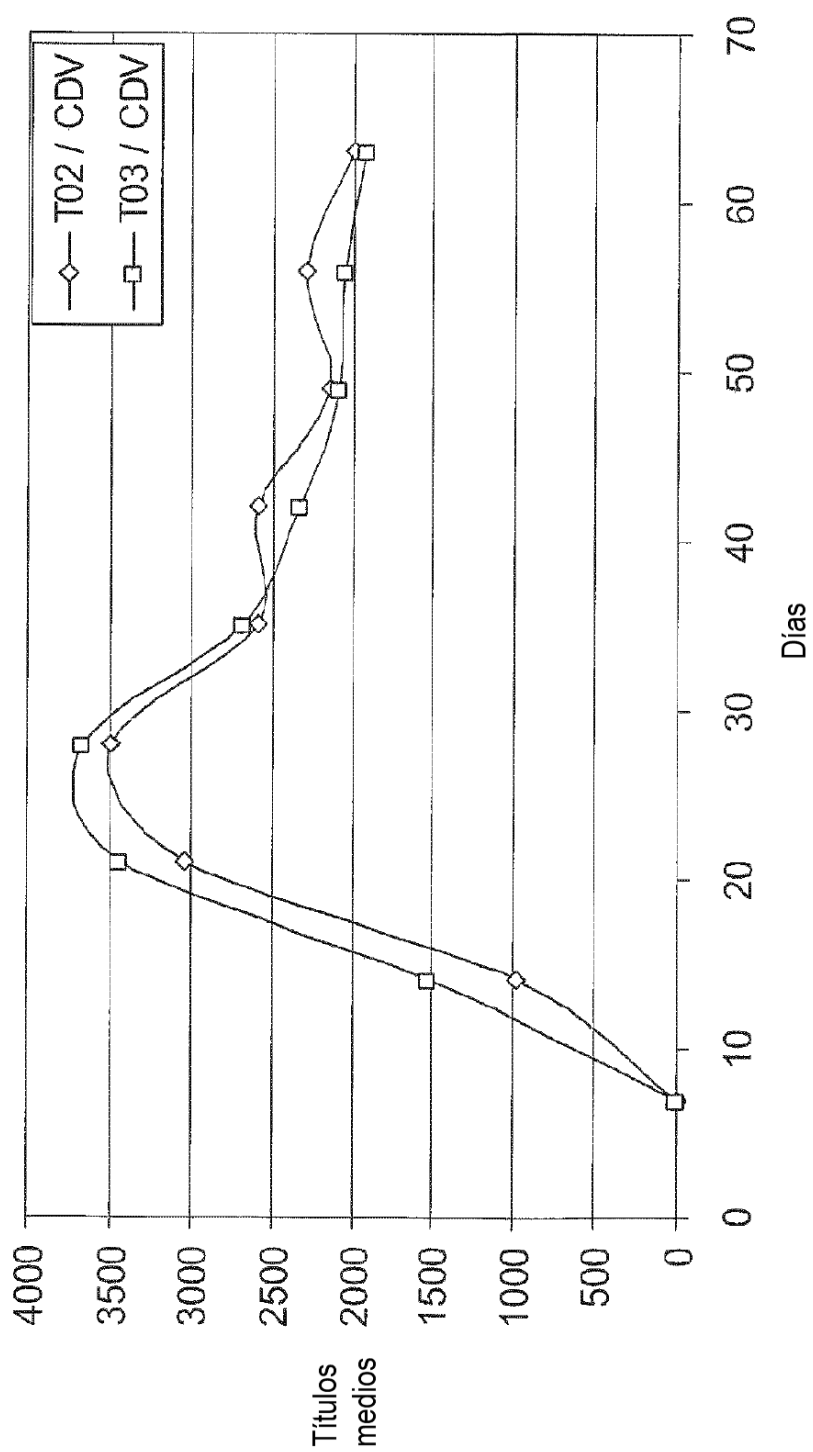


FIG. 1

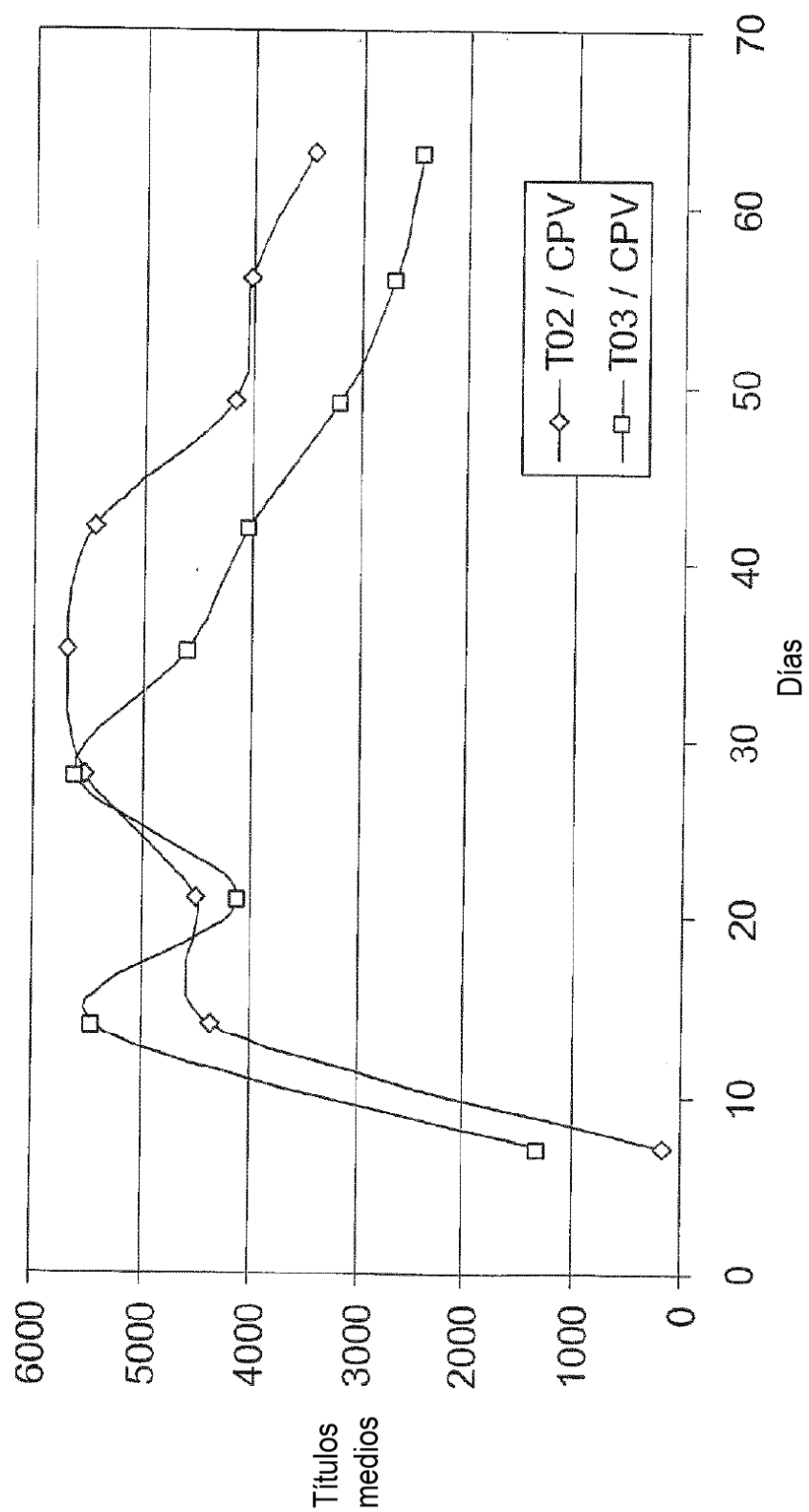


FIG. 2

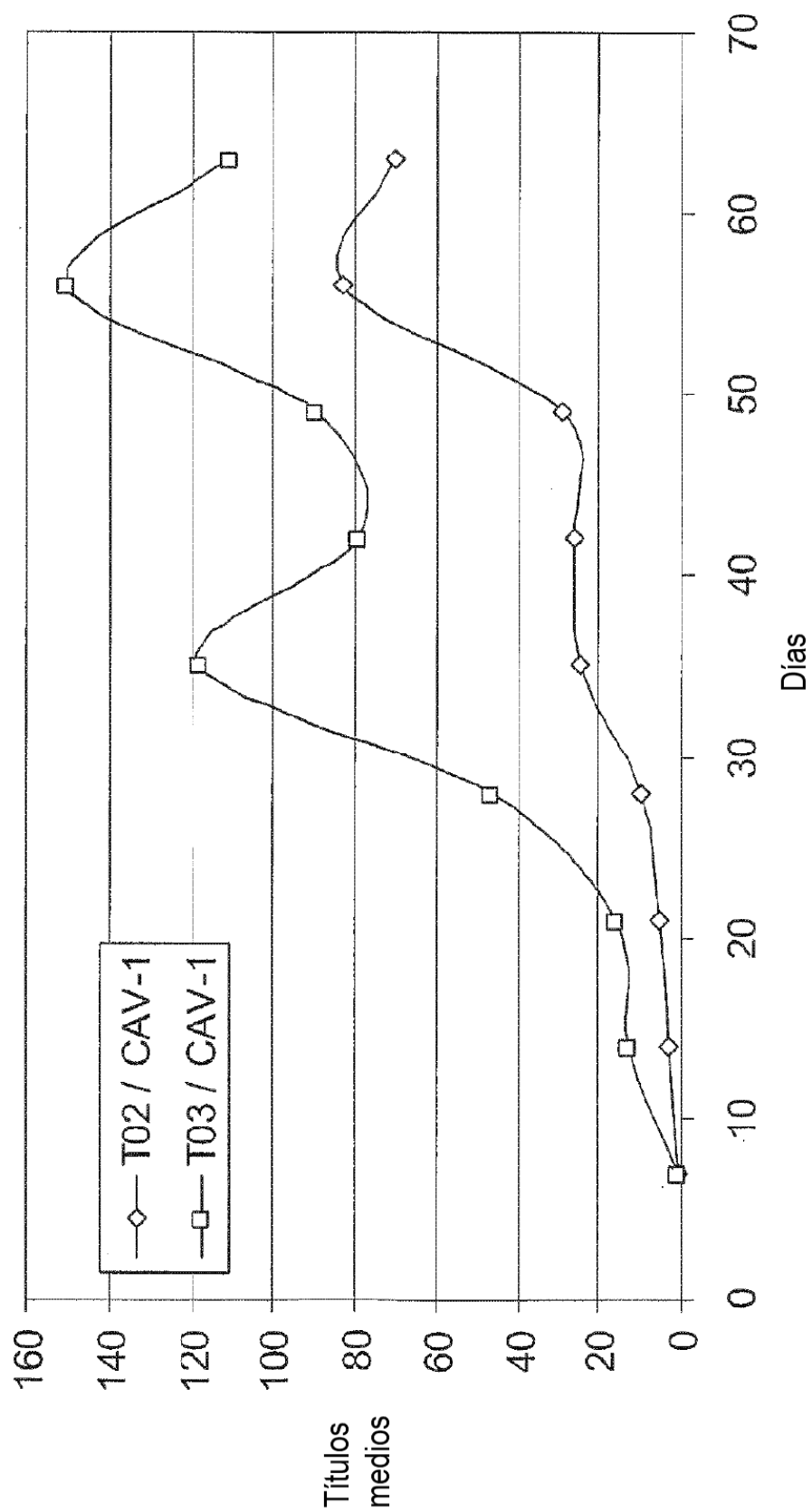


FIG. 3