

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 383 209**

51 Int. Cl.:  
**A61K 39/095** (2006.01)  
**A61P 31/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07753720 .7**  
96 Fecha de presentación: **22.03.2007**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2004225**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.12.2008**

54 Título: **Regímenes para la inmunización con conjugados meningocócicos**

30 Prioridad:  
**22.03.2006 US 785234 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**19.06.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**19.06.2012**

73 Titular/es:  
**NOVARTIS AG  
CORPORATE INTELLECTUAL PROPERTY  
LICHTSTRASSE 35  
4056 BASEL, CH**

72 Inventor/es:  
**DANZIG, Lisa**

74 Agente/Representante:  
**Carpintero López, Mario**

ES 2 383 209 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

Regímenes para la inmunización con conjugados meningocócicos

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere al campo de la inmunización de pacientes con conjugados meningocócicos.

**5 Antecedentes de la invención**

Las vacunas conjugadas contra *N. meningitidis* serogrupo C están aprobadas para su uso en seres humanos e incluyen los productos conocidos como Menjugate™ [1], Meningitec™ y NeisVac-C™. También se han descrito mezclas bivalentes de conjugados de los serogrupos A+C [2,3] y C+Y [4]. También se conocen las mezclas de los conjugados de los cuatro serogrupos A, C, W135 e Y (por ej., véase referencias bibliográficas 5-9), incluyendo el producto Menactra™ que se aprobó en 2005.

Además de los antígenos incluidos en una vacuna, un aspecto importante de la inmunización efectiva es el esquema posológico. Como se señala en el capítulo 8 de la referencia bibliográfica 10, "la mayoría de las vacunas requieren la administración de múltiples dosis en una serie primaria para el desarrollo de la inmunidad". Además, "podría ser necesario la revacunación periódica ('dosis de refuerzo') con determinadas vacunas para mantener la inmunidad".

15 Esquemas posológicos conocidos para las vacunas meningocócicas del serogrupo C incluyen: una dosis única a los 12 meses de edad; dos dosis a los 2 y 4 meses; tres dosis a los 2, 3, y 4 meses de edad; tres dosis a los 2, 4 y 6 meses de edad; tres dosis a los 3, 5 y 12 meses de edad; tres dosis a los 2, 4 y 12 meses. Se han sugerido otros esquemas alternativos, incluyendo la posibilidad de una dosis al final de la lactancia (doce meses) o al segundo año de vida [11].

20 Las combinaciones de conjugados meningocócicos multivalentes se han administrado según diferentes esquemas posológicos. Por ejemplo, esquemas de dosis única conocidos para vacunas conjugadas meningocócicas multivalentes incluyen: al menos 14 semanas de edad [12]; a los 6 meses de edad [13]; a los 9 meses [12]; entre 12-16 meses [14]; entre 2-3 años de edad [5,15]; entre 2-10 años [16,17,18]; entre 11-18 años [18]; 18-50 años [19]; 18-55 años [18]. La ficha técnica de Menactra™ señala que debe administrarse en una única dosis a los 11-18 o 18-55 años de edad.

25 Esquemas de 2 dosis conocidos para vacunas conjugadas meningocócicas multivalentes incluyen: 2 y 6 meses de edad [13]; primera dosis a las 14 semanas de edad, segunda dosis a los 9 meses de edad [12]; primera dosis a los 12-15 meses, segunda dosis 2 meses más tarde [5]; primera dosis a los 12-16 meses, segunda dosis 1 mes más tarde [14]; dosis a los 2 años en el tiempo cero y después 2 meses más tarde [18]; en adultos en el tiempo cero y después 6 semanas más tarde [2]; en adultos en el tiempo cero y después 2 meses más tarde [3]. También se ha descrito un estudio clínico en el cual los pacientes recibieron una primera dosis a la edad de 11-18 años y una segunda dosis 3 años más tarde.

Esquemas de 3 dosis conocidos para vacunas conjugadas meningocócicas multivalentes incluyen: 6, 10 y 14 semanas de edad [5,12]; 2, 3 y 4 meses [13]; 2, 4 y 6 meses de edad [18]; 3, 4 y 5 meses de edad [20].

35 En la referencia bibliográfica 12 se divulga un esquema de 4 dosis a las 6 semanas, 10 semanas, 14 semanas y 9 meses.

Es un objeto de la invención proporcionar esquemas mejorados para la administración de vacunas conjugadas meningocócicas multivalentes, en particular a niños.

40 Leach et al. (1997) J Infect Dis. 175(1): 200-4 describe un ensayo clínico en el cual doscientos veintinueve niños de Gambia vacunados previamente con una, dos o tres dosis de una vacuna conjugada meningocócica (grupo A más grupo C) o dos dosis de vacuna de polisacáridos antes de la edad de 6 meses se volvieron a vacunar a la edad de 18-24 meses con vacunas de polisacáridos meningocócicos, conjugadas o vacunas de poliovirus inactivadas. El documento US-B1-6 531 131 divulga una vacuna conjugada contra *N. meningitidis* que comprende lipooligosacáridos que no contienen un antígeno lacto-N-tetraosa del cual se eliminado al menos un ácido graso unido mediante O primario y se ha conjugado con un vehículo inmunogénico. El documento WO 2005/000345 describe métodos de inmunización de un paciente con una vacuna combinada de la que se dice que ofrece protección contra la enfermedad meningocócica causada por bacterias patógenas *N. meningitidis* serogrupos A y C. La vacuna comprende al menos dos conjugados polisacárido-proteína distintos que se formulan como una dosis única de la vacuna. Los polisacáridos capsulares purificados de *N. meningitidis* serogrupos A y C están químicamente activados y se unen selectivamente a una proteína vehículo mediante un enlace químico covalente, formando conjugados polisacárido-proteína. Se dice que estos conjugados son capaces de provocar inmunidad duradera contra una variedad de cepas de *N. meningitidis* en niños pequeños.

**Divulgación de la invención**

De acuerdo con la invención, las vacunas conjugadas meningocócicas multivalentes se administran de acuerdo con

5 un esquema en el que una primera dosis se administra a un paciente con una edad comprendida entre 0 y 12 meses y una segunda dosis se administra a un paciente con una edad comprendida entre 12 y 24 meses. La vacuna conjugada meningocócica multivalente incluye sacáridos capsulares de los cuatro serogrupos meningocócicos A, C, W135 e Y. Este esquema ofrece una protección más temprana que el esquema aprobado existente, reduce el coste de la inmunización evitando la necesidad de una tercera inmunización y la segunda dosis puede actuar como una dosis de refuerzo para proporcionar una protección duradera.

Por lo tanto, la invención proporciona los usos de las reivindicaciones 1 y 2 y el kit de la reivindicación 3.

**El esquema**

10 El esquema de la invención implica una primera dosis en el primer año de vida y una segunda dosis en el segundo año de vida. La primera dosis se administra a un paciente con una edad comprendida entre los 1 y 12 meses, hasta, pero sin incluir el primer cumpleaños. La segunda dosis se administra a un paciente con una edad comprendida entre los 12 y los 24 meses, a partir del primer día de su primer cumpleaños, hasta e incluyendo su segundo cumpleaños.

15 En este esquema general, las dos dosis se pueden administrar en cualquier momento. En general, sin embargo, las dos dosis se administrarán con al menos 4 semanas de diferencia, por ej., ≥8 semanas de diferencia, ≥2 meses de diferencia, ≥3 meses de diferencia, ≥6 meses de diferencia, etc.

En el período de 0-12 meses, la primera dosis preferiblemente no se administra antes de aproximadamente las 6 semanas de edad, después de 5 semanas. Los momentos típicos para recibir la primera dosis son a los 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses o 6 meses de edad.

20 En el período de 12-24 meses, la segunda dosis preferiblemente se administra en la primera mitad, es decir, entre los 12 y los 18 meses, por ej., entre los 12 y los 15 meses de edad o entre los 15 y los 18 meses.

El paciente no deberá haber recibido una vacuna conjugada meningocócica antes de la primera dosis del esquema. En realizaciones preferidas, el paciente no recibe una vacuna conjugada meningocócica entre la primera dosis y la segunda dosis, aunque a veces se puede administrar una dosis intermedia.

25 Por ejemplo, el paciente puede recibir 2 ó 3 dosis en el período de 0-12 meses, por ej., a los 2, 3 y 4 meses de edad, a los 3, 4 y 5 meses de edad, a los 2, 4 y 6 meses y a los 3, 5 y 9 meses, etc.

30 En algunas realizaciones, el paciente no recibe una dosis adicional, aunque en otras realizaciones sí. Una dosis adicional preferiblemente no se administra hasta después del segundo cumpleaños del paciente, por ej., hasta después de su quinto cumpleaños, después de su décimo cumpleaños, después de su decimoquinto cumpleaños, después de su decimoséptimo cumpleaños, después de su vigésimo primer cumpleaños, etc. La dosis adicional se puede administrar cuando las concentraciones de anticuerpos circulantes hayan disminuido hasta niveles indetectables [21].

35 Convenientemente, la primer dosis se puede administrar sustancialmente al mismo tiempo que (por ej., durante la misma consulta o visita médica a un profesional sanitario) otra vacuna, por ej., sustancialmente al mismo tiempo que una vacuna contra el virus de la hepatitis B, una vacuna contra la difteria, una vacuna contra el tétanos, una vacuna contra la tos ferina (celular o, preferiblemente acelular), una vacuna contra *Haemophilus influenzae* tipo b, una vacuna contra *Streptococcus pneumoniae* y/o una vacuna contra la poliomielitis (preferiblemente en la vacuna contra la poliomielitis inactivada). Cada una de estas vacunas coadministradas opcionalmente pueden ser una vacuna monovalente o pueden formar parte de una vacuna de combinación (por ej., como parte de una vacuna D-T-P).

40 Convenientemente, la segunda dosis se puede administrar sustancialmente al mismo tiempo que (por ej., durante la misma consulta o visita médica a un profesional sanitario) otra vacuna, por ej., sustancialmente al mismo tiempo que una vacuna contra el virus de la hepatitis B, una vacuna contra la difteria, una vacuna contra el tétanos, una vacuna contra la tos ferina (celular o, preferiblemente acelular), una vacuna contra *Haemophilus influenzae* tipo b, una vacuna contra *Streptococcus pneumoniae* y/o una vacuna contra la poliomielitis (preferiblemente en la vacuna contra la poliomielitis inactivada), una vacuna contra la gripe, una vacuna contra la varicela, una vacuna contra el sarampión, una vacuna contra las paperas y/o una vacuna contra la rubéola. Cada una de estas vacunas coadministradas opcionalmente pueden ser una vacuna monovalente o pueden formar parte de una vacuna de combinación (por ej., como parte de una vacuna (M-M-R)).

*La vacuna*

50 La invención implica la administración de vacunas conjugadas meningocócicas multivalentes, es decir, vacunas que cuando se administran simultáneamente proporcionan inmunidad contra uno o más serotipos diferentes de *N. meningitidis*. Las vacunas multivalentes son contra 4 de los serogrupos A, C, W135 e Y. Se usan vacunas que incluyen sacáridos de los cuatro serogrupos A, C, W135 e Y.

Las vacunas incluyen sacáridos capsulares meningocócicos conjugados con una proteína vehículo.

- El sacárido capsular del serogrupo A meningocócico es un homopolímero del *N*-acetil-D-manosamina-1-fosfato con enlaces ( $\alpha 1 \rightarrow 6$ ), con una O-acetilación parcial en las posiciones C3 y C4. Los grupos acetilo pueden estar reemplazados por grupos bloqueantes para evitar la hidrólisis [22] y estos sacáridos modificados siguen siendo sacáridos del serogrupo A dentro del significado de la presente invención. El sacárido capsular del serogrupo C es un homopolímero de ácido siálico con enlaces ( $\alpha 2 \rightarrow 9$ ) (ácido *N*-acetilneuramínico o "NeuNac"). La mayoría de las cepas del serogrupo C tienen grupos O-acetilo en C-7 y/o C-8 de los restos ácido siálico, pero aproximadamente el 15% de los aislados clínicos carecen de estos grupos O-acetilo [23, 24]. La estructura del sacárido se escribe como  $\rightarrow 9$ -Neu *p* NAc 7/8 OAc-( $\alpha 2 \rightarrow$ ). El sacárido del serogrupo W135 es un polímero de unidades de ácido siálico-disacárido galactosa. Al igual que el sacárido del serogrupo C, tiene una O-acetilación variable pero en las posiciones 7 y 9 del ácido siálico [25]. La estructura se escribe como:  $\rightarrow 4$ -D-Neup5Ac(7/9OAc)- $\alpha$ -(2 $\rightarrow$ 6)-D-Gal- $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ ). El sacárido del serogrupo Y es similar al sacárido del serogrupo W135, excepto que la unidad repetida de disacárido incluye glucosa en lugar de galactosa. Como el serogrupo W135, tiene una O-acetilación variable en las posiciones 7 y 9 del ácido siálico [25]. La estructura del serogrupo Y se escribe como:  $\rightarrow 4$ D-Neup5Ac(7/9OAc)- $\alpha$ -(2 $\rightarrow$ 6)-D-Glc- $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ ).
- Los sacáridos utilizados según la invención pueden estar O-acetilados como se describió anteriormente (por ejemplo, con el mismo patrón de O-acetilación que el observado en sacáridos capsulares nativos), o pueden estar parcial o totalmente des-O-acetilados en una o más posiciones de los anillos de los sacáridos, o pueden estar hiper-O-acetilados con relación a los sacáridos capsulares nativos. Los sacáridos del serogrupo C utilizados en esta invención se pueden preparar a partir de cepas OAc+ o OAc-. Las cepas preferidas para la producción de conjugados de serogrupo C son cepas OAc+, preferiblemente de serotipo 16, preferiblemente del subtipo sérico P1-7a, 1. Por lo tanto, se prefieren las cepas C:16:P1.7a,1 OAc+. Preferiblemente al menos el 50% (por ej., al menos el 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o más) de los residuos manosamina en sacáridos de serogrupo A están O-acetilados en la posición C-3.
- Los residuos sacáridos de los conjugados pueden comprender sacáridos de longitud completa como los preparados a partir de meningococos y/o pueden comprender fragmentos de sacáridos de longitud completa. Los sacáridos utilizados según la invención son preferiblemente más cortos que los sacáridos capsulares nativos que se observan en bacterias. Por tanto, los sacáridos están preferiblemente despolimerizados, produciéndose la despolimerización después de la purificación pero antes de la conjugación. La despolimerización reduce la longitud de la cadena de los sacáridos. Un procedimiento de despolimerización preferido implica el uso de peróxido de hidrógeno [5]. El peróxido de hidrógeno se añade a un sacárido (por ejemplo, para producir una concentración final de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> del 1%), y la mezcla después se incuba (por ejemplo, a aproximadamente 55°C) hasta que se logra la reducción deseada en la longitud de la cadena. Otro procedimiento de despolimerización implica la hidrólisis ácida [5]. Otros procedimientos de despolimerización son conocidos por los expertos en la técnica. Los sacáridos utilizados para preparar los conjugados para su uso según la invención pueden obtenerse mediante cualquiera de estos procedimientos de despolimerización. La despolimerización puede utilizarse para proporcionar una longitud de cadena óptima para la inmunogenicidad y/o para reducir la longitud de la cadena para la manipulación física de los sacáridos. Los sacáridos preferidos tienen el siguiente intervalo de grados promedio de grados de polimerización (Dp): A=10-20; C=12-22; W135=15-25; Y=15-25. En términos de peso molecular, en lugar de Dp, los intervalos preferidos son, para todos los serogrupos: <100kDa, 5kDa-75kDa, 7kDa-50kDa, 8kDa-35kDa, 12kDa-25kDa y 15kDa-22kDa.
- Las proteínas vehículo típicas para su uso en los conjugados son toxinas bacterianas, como la toxina de la difteria [por ej., véase capítulo 13 o ref. 10, refs. 26-29] (o su mutante CRM197 [30-33]) y la toxina del tétanos, habitualmente en forma de toxoide (por ej., obtenida por tratamiento con un inactivante químico, tal como formalina o formaldehído). Otras proteínas vehículo adecuadas incluyen, sin limitación, la proteína de la membrana externa de *N. meningitidis* [34], péptidos sintéticos [35,36], proteínas de choque térmico [37,38], proteínas de pertussis [39,40], citoquinas [41], linfoquinas [41], hormonas [41], factores del crecimiento [41], proteínas artificiales que comprenden epitopos de linfocitos T CD4+ humanos múltiples de diversos antígenos derivados de patógenos [42], tal como N19 [43], la proteína D de *H. influenzae* [44-46], la neumolisina [47], la proteína de la superficie PspA pneumocócica [48], proteínas de captación de hierro [49], la toxina A o B de *C. difficile*, etc.
- Cuatro proteínas vehículo particularmente preferidas son el toxoide de la difteria (Dt), el toxoide del tétanos (Tt), CRM197 y la proteína D de *H. influenzae*. Estas proteínas son preferidas porque son los principales vehículos actualmente en uso en las vacunas pediátricas, por ej., los conjugados Hib de GSK utilizan el Tt como vehículo, el producto HibTITER™ usa CRM197, los conjugados neumocócicos de Prevenar™ utilizan CRM197, los productos Menjugate™ y Meningitec™ usan CRM197 y NeisVac-C™ usa Tt.
- Los conjugados preferiblemente se mezclan para producir sustancialmente masas iguales (medida como la masa del sacárido), por ejemplo, la masa del sacárido de cada serogrupo está dentro del  $\pm 10\%$  entre sí. Una cantidad típica de antígeno meningocócico por serogrupo en una composición está entre 1  $\mu$ g y 20  $\mu$ g, por ejemplo entre 2 y 10  $\mu$ g por serogrupo, o aproximadamente 4  $\mu$ g. Como alternativa a una proporción igual, puede utilizarse una dosis doble de serogrupo A.
- Se prefieren los conjugados con una proporción de sacárido:proteína (en p/p) de entre 1:15 (es decir, un exceso de proteína) y 15:1 (es decir, un exceso de sacárido), preferiblemente entre 1:5 y 5:1. Se prefiere un exceso de proteína vehículo. Se prefieren los conjugados con una proporción de sacárido:proteína de aproximadamente 1:12 o

aproximadamente 1:3, especialmente cuando el vehículo es Dt.

Puede utilizarse cualquier reacción de conjugación adecuada, con cualquier conector adecuado cuando sea necesario.

5 El sacárido, de forma típica, estará activado o funcionalizado antes de la conjugación. La activación puede implicar, por ejemplo, reactivos cianilantes [51,52]. Otras técnicas adecuadas emplean ésteres activos, carbodiimidas, hidrazidas, norborano, ácido p-nitrobenzoico, N-hidroxisuccinimida, S-NHS, EDC, TSTU; véase también la introducción a la referencia bibliográfica 53.

10 Los enlaces a través del grupo conector pueden formarse utilizando cualquier procedimiento conocido, por ejemplo los procedimientos descritos en las referencias bibliográficas 54 y 55. Un tipo de enlace implica la aminación reductora del polisacárido, el acoplamiento del grupo amino resultante a un extremo de un grupo conector de ácido adípico, y después el acoplamiento de la proteína al otro extremo del grupo conector de ácido adípico [56, 57, 58]. Otros conectores incluyen B-propionamido [59], nitrofeniletilamina [60], haluros de haloacilo [61], enlaces glicosídicos [62], ácido 6-aminocaproico [63], ADH [64], restos C<sub>4</sub> a C<sub>12</sub> [65], etc. Como alternativa a la utilización de un conector puede utilizarse un enlace directo. Los enlaces directos a la proteína pueden comprender la oxidación del polisacárido, seguido de una aminación reductora con la proteína como se describe, por ejemplo, en las referencias bibliográficas 66 y 67.

20 Un procedimiento preferido de conjugación implica la introducción de grupos amino en el sacárido (por ejemplo reemplazando los grupos =O terminales por -NH<sub>2</sub>), seguido de la derivatización con un diéster adípico (por ejemplo, diéster N-hidroxisuccinimídico del ácido adípico) y la reacción con la proteína vehículo (por ej., CRM197). Otros detalles de este procedimiento de conjugación pueden encontrarse en la referencia bibliográfica 6. Los conjugados que pueden obtenerse mediante este procedimiento son conjugados preferidos para su uso según la invención.

25 En otro procedimiento de conjugación preferido se hace reaccionar un sacárido con dihidrazida del ácido adípico. Para el serogrupo A, en esta etapa también puede añadirse carbodiimida (EDAC). Después de un periodo de reacción se añade cianoborohidruro de sodio. Entonces puede prepararse el sacárido derivatizado, por ejemplo mediante ultrafiltración. El sacárido derivatizado entonces se mezcla con la proteína vehículo (por ejemplo, con un toxoide del tétanos) y se añade carbodiimida. Después de un periodo de reacción el conjugado puede recuperarse. Otros detalles de este procedimiento de conjugación pueden encontrarse en la referencia bibliográfica 6. Los conjugados que pueden obtenerse mediante este procedimiento son conjugados preferidos para su uso según la invención, por ejemplo los conjugados que comprenden un vehículo de toxoide de la difteria y un conector de ácido adípico.

30 En otro procedimiento de conjugación preferido, un sacárido se derivatiza con un reactivo cianilante [52], seguido del acoplamiento a una proteína (directo o después de la introducción de un grupo nucleófilo tiol o hidrazida en el vehículo), sin la necesidad de usar un conector. Agentes cianilantes incluyen tetrafluoroborato de 1-ciano-4-(dimetilamino)-piridinio ('CDAP'), p-nitrofenilcianato y tetrafluoroborato de N-cianotrietilamonio ('CTEA'). CDAP es especialmente preferido, donde la proteína D de *H. influenzae* es el vehículo frecuente. Se prefiere el acoplamiento directo.

40 La administración de un conjugado tiene como resultado preferiblemente un aumento del título en el ensayo bactericida sérico (SBA) para el correspondiente serogrupo de al menos 4 veces y preferiblemente de al menos 8 veces, medido con complemento humano [68]. Si se usa complemento de conejo para medir los títulos SBA, entonces el título puede aumentar preferiblemente al menos 128 veces.

Los conjugados se preparan preferiblemente por separado y después se mezclan. Por lo tanto, se prefiere no usar serogrupos múltiples portadores de una única proteína (véase las referencias 69 y 70). Después del mezclado, la concentración de los conjugados mezclados puede ajustarse, por ejemplo con solución salina tamponada con fosfato, estéril y apirógena.

45 En las composiciones de la invención, la cantidad de vehículo (conjugado y no conjugado) de cada conjugado preferiblemente no es más de 100 µg/ml, por ej., <30 µg/ml, por ej., de la proteína vehículo de cada conjugado. Composiciones preferidas incluyen una concentración total de vehículo (solo para los conjugados meningocócicos o preferiblemente para la composición en conjunto) de menos de 500 µg/ml, por ej., <400 µg/ml, <300 µg/ml, <200 µg/ml, <100 µg/ml, <50 µg/ml, etc.

50 Las vacunas de la invención pueden no incluir ningún antígeno diferente al de los conjugados meningocócicos. En algunas realizaciones, sin embargo, las vacunas pueden incluir otros antígenos. Por lo tanto, pueden incluir otros antígenos de otros patógenos, especialmente de bacterias y/o virus. Estos pueden incluir otros sacáridos conjugados de organismos no meningocócicos y/o pueden incluir antígenos no sacáridos. Por ejemplo, pueden incluir uno o más de las siguientes:

- 55
- un toxoide de la difteria ('D').
  - un toxoide del tétanos ('T').
  - un antígeno de pertussis ('P'), que es típicamente acelular ('aP').

- un antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (VHB) ('HBsAg').
  - un antígeno del virus de la hepatitis A (VHA)
  - un sacárido capsular conjugado de *Haemophilus influenzae* tipo b ('Hib').
  - una proteína del serogrupo B de *N. meningitidis*.
- 5
- una preparación en vesícula del serogrupo B de *N. meningitidis*.
  - vacuna del poliovirus inactivada (PVI)

10 El esquema de la invención puede usar diferentes vacunas para la primera y segundas dosis, por ej., la primera vacuna puede incluir antígenos no meningocócicos, mientras que la segunda vacuna no, o la primera vacuna puede incluir un primer grupo de antígenos no meningocócicos (por ej., DTP), mientras que la segunda vacuna incluye un segundo grupo (diferente) de antígenos no meningocócicos (por ej., MMR).

15 Además de los componentes antigénicos descritos más arriba, las composiciones de la invención generalmente incluirán un componente no antigénico. El componente no antigénico puede incluir vehículos, adyuvantes, excipientes, tampones, etc., como se describe más detalladamente a continuación. Estos componentes no antigénicos pueden ser de diversas fuentes. Por ejemplo, pueden estar presentes en uno de los materiales antígeno o adyuvante que se usan durante la fabricación o se pueden añadir separadamente del resto de los componentes. Las composiciones preferidas de la invención incluyen uno o más vehículo(s) y/o excipiente(s) farmacéuticos. En la referencia bibliográfica 71 se presenta una discusión detallada de los vehículos farmacéuticamente aceptables.

20 Para controlar la tonicidad, se prefiere incluir una sal fisiológica, tal como una sal sódica. Se prefiere cloruro sódico (NaCl), la cual puede estar presente a entre 1 y 20 mg/ml.

Las composiciones generalmente tendrán una osmolalidad de entre 200 mOsm/kg y 400 mOsm/kg, preferiblemente entre 240-360 mOsm/kg y más preferiblemente estarán entre el intervalo de 290-310 mOsm/kg. Con anterioridad se ha descrito que la osmolalidad no tiene ningún efecto sobre el dolor causado por la vacunación [72], sin embargo, se prefiere mantener la osmolalidad en este intervalo.

25 Las composiciones de la invención pueden incluir uno o más tampones. Tampones típicos incluyen: un tampón fosfato, un tampón Tris, un tampón borato, un tampón succinato, un tampón histidina o un tampón citrato. Los tampones se incluirán típicamente en el intervalo de 5-20 mM.

El pH de una composición de la invención estará generalmente entre 5,0 y 7,5 y más típicamente entre 5,0 y 6,0 para una estabilidad óptima, o entre 6,0 y 7,0.

30 Las composiciones de la invención son preferiblemente estériles.

Las composiciones de la invención son preferiblemente apirógenas, por ej., contienen < 1 UE (unidad de endotoxina, una medida estándar) por dosis y preferiblemente <0,1 UE por dosis.

Las composiciones de la invención están preferiblemente exentas de gluten.

35 Cuando los antígenos están adsorbidos, una composición puede ser una suspensión con un aspecto turbio. Este aspecto significa que la contaminación microbiana no es fácilmente visible y, por lo tanto, la vacuna contiene preferiblemente un conservante. Esto es especialmente importante cuando la vacuna está envasada en envases multidosis. Los conservantes preferidos para su inclusión son el 2-fenoxietanol y el timerosal. Sin embargo, siempre que sea posible se recomienda no utilizar conservantes de mercurio (por ej., timerosal). Se prefiere que las composiciones de la invención contengan menos de aproximadamente 25 ng/ml de mercurio.

40 La concentración de cualquier sal de aluminio en una composición de la invención, expresada en términos de Al<sup>3+</sup>, es preferiblemente menos de 5 mg/ml, por ej., ≤4 mg/ml, ≤3 mg/ml, ≤2 mg/ml, ≤1 mg/ml, etc.

Las composiciones de la invención se administran preferiblemente a los pacientes en dosis de 0,5 ml. Se entiende que las referencias a dosis de 0,5 ml incluyen una variación normal, por ej., 0,5 ml ± 0,05 ml.

45 En la vacuna final producida mediante el procedimiento de la invención puede existir también material residual de componentes antigénicos individuales en cantidades traza. Por ejemplo, si se ha utilizado formaldehído para preparar los toxoides de la difteria, tétanos y pertussis, entonces el producto vacuna final puede contener cantidades traza de formaldehído (por ej., menos de 10 µg/ml, preferiblemente < 5 µg/ml). Durante la preparación de la vacuna contra el poliovirus pueden haberse utilizado medios o estabilizantes (por ej., Medio 199) y estos pueden arrastrarse hasta la vacuna final. De modo similar, en la vacuna final pueden existir aminoácidos libres (por ej., alanina, arginina, aspartato, cisteína y/o cistina, glutamato, glutamina, glicina, histidina, prolina y/o hidroxiprolina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, serina, treonina, triptófano, tirosina y/o valina), vitaminas (por ej., colina, ascorbato, etc.), fosfato disódico, fosfato monopotásico, calcio, glucosa, adenina sulfato, fenol rojo, acetato sódico, cloruro potásico, etc. en concentraciones de ≤ 100 µg/ml, preferiblemente < 10 µg/ml, cada uno. Otros componentes de las preparaciones del antígeno, tales como la neomicina (por ej., sulfato de neomicina, especialmente de un componente PVI), la polimixina B (por ej., sulfato de polimixina B, especialmente de un componente PVI), etc.

55

pueden estar presentes también, por ej., en cantidades inferiores al nanogramo por dosis.

Otro componente posible adicional de la vacuna final que tiene su origen en las preparaciones del antígeno surge de la purificación no total de los antígenos. Por consiguiente, pueden estar presentes pequeñas cantidades de proteínas y/o ADN genómico de *B. pertussis*, *C. diphtheriae*, *C. tetani* y/o *S. cerevisiae*.

- 5 Los conjugados meningocócicos se pueden liofilizar antes de su uso de acuerdo con la invención. Si se liofilizan, la composición puede incluir un estabilizante, tal como manitol. Esta también puede incluir cloruro sódico.

### **El paciente**

La edad de los pacientes que reciben las vacunas de la invención viene determinada por el esquema.

- 10 Aunque el paciente no haya recibido una vacuna conjugada meningocócica antes de la primera dosis en el esquema, puede haber recibido otros conjugados no meningocócicos y/o puede haber recibido la proteína vehículo que se usa en el conjugado meningocócico. La exposición previa al vehículo puede haber sido como vehículo en un conjugado no meningocócico (por ej., en un conjugado Hib) y/o como antígeno por sí mismo (por ej., habitualmente se usa el toxoide del tétanos como vehículo para conjugados Hib), aunque también se usa como un antígeno para protección contra *C. tetani*).

- 15 Después de recibir la primera dosis del esquema y antes de la segunda dosis, un paciente se distingue de una persona de la población general porque tendrá una respuesta inmunitaria incrementada respecto a la de la primera dosis. Por lo tanto, los pacientes que estén esperando recibir la segunda dosis del esquema son un conjunto específico e identificable de la población.

- 20 Las composiciones de la invención se pueden administrar por inyección intramuscular, por ej., en el brazo, en la pierna o en la nalga. Cuando se administra concomitantemente con otra vacuna, es típico inyectar las composiciones en miembros opuestos, por ej., inyectar una en el brazo izquierdo y la otra en el brazo derecho.

Cuando las composiciones de la invención incluyen un adyuvante a base de aluminio, puede producirse la sedimentación de los componentes. Por consiguiente, debe agitarse la composición antes de su administración a un paciente. La composición agitada será generalmente una suspensión turbida de color blanco.

- 25 El paciente es un ser humano.

### **Envase**

Las vacunas para su uso con la invención se pueden incluir en envases para su uso. Envases adecuados incluyen viales y jeringas desechables (preferiblemente estériles).

- 30 Cuando una composición de la invención está envasada en viales, estos preferiblemente son de un material de vidrio o de plástico. El vial preferiblemente se esteriliza antes de añadir la composición al mismo. Para evitar problemas con pacientes sensibles al látex, los viales preferiblemente se sellan con un tapón sin látex. El vial puede incluir una dosis única de vacuna o puede incluir más de una dosis (un vial 'multidosis'), por ej., 10 dosis. Cuando se usa un vial multidosis, cada dosis debe extraerse con una aguja y una jeringa estériles en condiciones asépticas estrictas, teniendo cuidado de evitar la contaminación del contenido del vial. Los viales preferidos son de vidrio incoloro.

- 35 Un vial puede tener un tapón (por ej., de tipo Luer lock) adaptado de tal forma que una jeringa precargada se puede insertar en el tapón, expeliendo el contenido de la jeringa en el vial (por ej., para reconstituir el material liofilizado que se encuentra en su interior) y el contenido del vial se puede extraer de nuevo hasta la jeringa. Después de retirar la jeringa del vial, se le puede acoplar una aguja y se puede administrar la composición al paciente. El tapón está preferiblemente localizado dentro de un precinto o tapa, de modo que el precinto o tapa debe retirarse antes de acceder al tapón.

- 40 Cuando la composición está incluida en una jeringa, la jeringa normalmente no se suministra con una aguja, aunque se puede suministrar una aguja por separado con la jeringa para su ensamblaje y uso. Se prefieren las agujas de seguridad, son habituales las agujas de 2,4 cm y 23 de calibre, 2,4 cm y 25 de calibre y 1,6 cm y 25 de calibre. Las jeringas se pueden suministrar con etiquetas desplegadas en las cuales puede estar impresa el número de lote y la fecha de caducidad del contenido para facilitar el mantenimiento de los registros. El émbolo de la jeringa generalmente tiene un tapón para evitar que el émbolo se extraiga accidentalmente durante la aspiración. Las jeringas pueden tener un tapón y/o émbolo de goma de látex. Las jeringas desechables contienen una única dosis de vacuna. Las jeringas generalmente tienen un capuchón en la punta para proteger la punta antes de su ensamblaje con una aguja y el capuchón de la punta está hecho preferiblemente de goma butílica. Si la jeringa y la aguja están envasadas individualmente, entonces la aguja está preferiblemente equipada con un protector de goma butílica. Se prefiere la goma butílica gris. Las jeringas preferidas son las comercializadas con la marca comercial "Tip-Lok™".

Cuando se usa un envase de vidrio (por ej., una jeringa o un vial), entonces se prefiere usar un envase hecho de vidrio borosilicato en lugar de un vidrio sodocálcico.

Si una vacuna está en forma liofilizada, entonces habitualmente se resuspenderá en una forma acuosa antes de su administración.

Además de contener vacunas para administración, los kits de la invención pueden incluir instrucciones para la administración de la vacuna. Las instrucciones se referirán a un esquema de inmunización que incluye:

- 5 (a) administrar primero la vacuna a un paciente cuando tiene una edad comprendida entre 0 y 12 meses, y
- (b) administrar posteriormente la vacuna a un paciente cuando tiene una edad comprendida entre 12 y 24 meses.

### **Adyuvantes**

10 Las vacunas de la invención pueden incluir un adyuvante. Sin embargo, cuando una vacuna incluye sólo conjugados meningocócicos, no se prefiere el uso de un adyuvante. Cuando se utiliza un adyuvante, este puede comprender una o más sales de aluminio y especialmente un adyuvante de fosfato de aluminio y/o un adyuvante de hidróxido de aluminio.

15 Los adyuvantes de aluminio actualmente en uso se denominan generalmente adyuvantes de "hidróxido de aluminio" o adyuvantes de "fosfato de aluminio". Sin embargo, estos nombres son de conveniencia, ya que ninguno de ellos es una prescripción precisa del compuesto químico real que está presente (por ej., véase capítulo 9 de la referencia bibliográfica 73).

La invención puede usar cualquiera de las sales "hidróxido" o "fosfato" que son de uso general como adyuvantes.

20 Los adyuvantes conocidos como "hidróxido de aluminio" son generalmente sales de oxihidróxido de aluminio, las cuales son habitualmente al menos parcialmente cristalinas. El oxihidróxido de aluminio, que se puede representar por la fórmula  $\text{AlO}(\text{OH})$  se puede distinguir de otros compuestos de aluminio, tal como el hidróxido de aluminio  $\text{Al}(\text{OH})_3$ , mediante espectroscopía infrarroja (IR), en particular por la presencia de una banda de absorción a  $1070 \text{ cm}^{-1}$  y un hombro marcado a  $3090\text{-}3100 \text{ cm}^{-1}$  (capítulo 9 de la referencia bibliográfica 73).

25 Los adyuvantes conocidos como "fosfato de aluminio" son habitualmente hidroxifosfatos de aluminio, los cuales también frecuentemente contienen una pequeña cantidad de sulfato. Estos se pueden obtener por precipitación y las condiciones de reacción y las concentraciones durante la precipitación pueden influir en el grado de sustitución del fosfato por hidroxilo en la sal. Los hidroxifosfatos generalmente tienen una relación molar  $\text{PO}_4/\text{Al}$  entre 0,3 y 0,99. Los hidroxifosfatos se pueden distinguir del  $\text{AlPO}_4$  estricto por la presencia de grupos hidroxilo. Por ejemplo, una banda en el espectro IR a  $3164 \text{ cm}^{-1}$  (por ej., cuando se calienta hasta  $200^\circ\text{C}$ ) indica la presencia de hidroxilos estructurales (capítulo 9 de la referencia bibliográfica 73).

30 La relación molar  $\text{PO}_4/\text{Al}^{3+}$  de un adyuvante de fosfato de aluminio estará generalmente entre 0,3, y 1,2, preferiblemente entre 0,8 y 1,2, y más preferiblemente  $0,95 \pm 0,1$ . El fosfato de aluminio será generalmente amorfo, especialmente las sales hidroxifosfato. Un adyuvante típico es el hidroxifosfato de aluminio amorfo con una relación molar  $\text{PO}_4/\text{Al}$  entre 0,84 y 0,92, incluido a razón de 0,6 mg de  $\text{Al}^{3+}/\text{ml}$ . El fosfato de aluminio estará generalmente en forma de partículas. Los diámetros típicos de las partículas están en el intervalo de 0,5-20  $\mu\text{m}$  (por ej.,

35 aproximadamente 5-10  $\mu\text{m}$ ) después de la adsorción de cualquier antígeno.

El PZC de fosfato de aluminio está inversamente relacionado con el grado de sustitución de fosfato por hidroxilo, y este grado de sustitución puede variar en función de las condiciones de reacción y la concentración de los reactantes usados para la preparación de la sal mediante precipitación. El PZC también se altera cambiando la concentración de iones fosfato libres en solución (más fosfato= PZC más ácido) o añadiendo un tampón tal como un

40 tampón de histidina (hace que el PZC sea más básico). Los fosfatos de aluminio usados de acuerdo con la invención tendrán, en general, un PZC de entre 4,0 y 7,0, más preferiblemente entre 5,0 y 6,5, por ejemplo de aproximadamente 5,7.

Una solución de fosfato de aluminio usada para preparar una composición de la invención puede contener un tampón (p. ej., un fosfato o una histidina o un tampón Tris), pero esto no siempre es necesario. La solución de

45 fosfato de aluminio es, preferiblemente, estéril y apirógena. La solución de fosfato de aluminio puede incluir iones fosfato acuosos libres, por ejemplo, presentes a una concentración entre 1,0 y 20 mM, preferiblemente entre 5 y 15 mM, y más preferiblemente aproximadamente 10 mM. La solución de fosfato de aluminio puede también comprender cloruro sódico. La concentración de cloruro sódico está, preferiblemente, en el intervalo de 0,1 a 100 mg/ml (p. ej., 0,5-50 mg/ml, 1-20 mg/ml, 2-10 mg/ml) y, más preferiblemente, es de aproximadamente  $3 \pm 1 \text{ mg/ml}$ . La presencia

50 de NaCl facilita la medición correcta del pH antes de la adsorción de antígenos.

Se puede usar una mezcla de un adyuvante de hidróxido de aluminio y un adyuvante de fosfato de aluminio. Si es así, puede haber más fosfato de aluminio que hidróxido, por ej., una relación de peso de al menos 2: por ej.,  $\geq 5:1$ ,  $\geq 6:1$ ,  $\geq 7:1$ ,  $\geq 8:1$ ,  $\geq 9$ : etc.



**Generalidades**

El término "comprende" abarca "que incluye", así como "que consiste en", por ej., una composición que "comprende" X puede consistir exclusivamente en X o puede incluir algo adicional, por ejemplo X + Y.

5 El término "sustancialmente" no excluye "completamente", por ej., una composición que está "sustancialmente libre" de Y puede estar completamente libre de Y. Cuando sea necesario, la palabra "sustancialmente" puede omitirse de la definición de la invención.

El término "aproximadamente" con relación a un valor numérico x significa, por ejemplo,  $x \pm 10\%$ .

10 Salvo que se especifique de otra manera, un proceso que comprende un paso de mezclar dos o más componentes no requiere ningún orden específico de mezclado. Por lo tanto, los componentes se pueden mezclar en cualquier orden. Cuando existen tres componentes, entonces dos componentes se pueden combinar entre sí y después la combinación se puede combinar con el tercer componente, etc.

15 Cuando un antígeno se describe como "adsorbido" a un adyuvante, se prefiere que al menos el 50% (en peso) de ese antígeno se adsorba, por ej., 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% o más. Se prefiere que tanto el toxoide de la difteria como el toxoide del tétanos estén totalmente adsorbidos, es decir, que ninguno se puede detectar en el sobrenadante. También se prefiere la adsorción total del HBsAg.

Las cantidades de conjugados generalmente se dan en términos de masa de sacárido (es decir, la dosis del conjugado (vehículo + sacárido) en conjunto es mayor que la dosis especificada) con el fin de evitar variaciones debido a la elección del vehículo.

20 Cuando se usan materiales animales (y particularmente bovinos) en el cultivo de células, deberán obtenerse de fuentes que estén libres de encefalopatías espongiformes transmisibles (EST) y, en particular, libres de encefalopatía espongiforme bovina (EEB).

**Procedimientos para llevar a cabo la invención**

25 La inmunogenicidad, seguridad, tolerabilidad y la capacidad de inducir memoria para una vacuna conjugada meningocócica se están investigando en un estudio multicéntrico, abierto, controlado, aleatorizado. Los niños se dividen en tres grupos para recibir una vacuna A-C-W135-Y conjugada tetravalente sin adyuvantes como se indica a continuación, siendo el esquema del grupo 1 una realización de la invención:

- 1: primera dosis a aproximadamente los 6 meses, después una segunda dosis a aproximadamente 12 meses (el día del cumpleaños o después)
- 2: dosis única a aproximadamente los 12 meses (el día del cumpleaños o después)
- 30 3: dosis de MenC monovalente a los 12 meses, después cuatrivalente a los 18 meses.

Los conjugados meningocócicos se administran al mismo tiempo que otras vacunas pediátricas rutinarias y en el momento de la vacunación y 1 mes más tarde se extraen muestras de sangre para el análisis serológico.

	Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4
<b>Grupo 1</b>	6 meses	7 meses	12 meses	13 meses
	S, M4, PC7, 5	S	S, M4, PC7	S, 4V
<b>Grupo 2</b>	6 meses	7 meses	12 meses	13 meses
	S, PC7, 5	S	S, M4, PC7	S, 4V
<b>Grupo 3</b>	12 meses	13 meses	18 meses	19 meses
	S, M1, PC7	S, 4V	S, M4, 5	S

Leyenda: S = sangre extraída para serología; 5 = D-T-Pa-Hib-IPV; PC7 = conjugado neumocócico 7-valente; 4V = MMR+V; M4 = conjugados Men-A-C-W135-Y 4 valente; M1 = conjugado Men-C.

35 La inmunogenicidad se valora evaluando las respuestas de anticuerpos séricos mediante la medición de los títulos de los anticuerpos bactericidas.

Para las muestras de sangre extraídas en las 2 primeras visitas, el título de anticuerpos bactericidas en la visita 2, expresado en relación a la visita 1, era el presentado a continuación para cada grupo:

	A	C	W135	Y
<b>Grupo 1</b>	1,5	11	2,8	1,8
<b>Grupo 2</b>	1,0	1	1,0	1,0
<b>Grupo 3</b>	1,0	20	1,0	1,0

Se entiende que la invención se ha descrito mediante ejemplos solamente y que se pueden hacer modificaciones manteniendo el alcance de la invención, la cual se define en las reivindicaciones anexas.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 5 [1] Jones (2001) *Curr Opin Investig Drugs* 2:47-49.  
 [2] Costantino et al. (1992) *Vaccine* 10:691-8.  
 [3] Lieberman et al. (1996) *JAMA* 275:1499-503.  
 [4] Documento WO02/080965.  
 [5] Documento WO02/058737.
- 10 [6] Documento WO03/007985.  
 [7] Rennels et al. (2002) *Pediatr Infect Dis J* 21:978-979.  
 [8] Keyserling et al. (2005) *Arch Pediatr Adolesc Med* 159(10):907-13.  
 [9] Campbell et al. (2002) *J Infect Dis* 186:1848-1851.  
 [10] Vaccines. (eds. Plotkin & Orenstein). 4th edition, 2004, ISBN: 0-7216-9688-0.
- 15 [11] Trotter et al. (2004) *Lancet* 364:365-7.  
 [12] Documento WO02005/000345.  
 [13] Twumasi et al. (1995) *J Infect Dis* 171:632-8.  
 [14] Documento WO02005/105140  
 [15] Granoff et al. (2005) *Pediatr Infect Dis J* 24:132-6.
- 20 [16] Granoff & Harris (2004) *Pediatr Infect Dis J* 23:490-7.  
 [17] Granoff et al. (2005) *Vaccine* 23:4307-14.  
 [18] Documento WO2004/103400.  
 [19] Anderson et al. (1994) *Infect Immun* 62:3391-5.  
 [20] Documento WO02/00249.
- 25 [21] Documento WO98/58670.  
 [22] Documento WO03/080678.  
 [23] Glode et al. (1979) *J Infect Dis* 139:52-56  
 [24] Documento WO94/05325; US patent 5,425,946.  
 [25] Documento WO2005/033148.
- 30 [26] US patent 4,709,017.  
 [27] Documento WO93/25210.  
 [28] US patent 5,917,017.  
 [29] Documento WO00/48638.  
 [30] Del Giudice et al. (1998) *Molecular Aspects of Medicine* 19:1-70.
- 35 [31] Anonymous (Jan 2002) *Research Disclosure*, 453077.  
 [32] Anderson (1983) *Infect Immun* 39(1):233-238.  
 [33] Anderson et al. (1985) *J Clin Invest* 76(1):52-59.  
 [34] Documento EP-A-0372501.  
 [35] Documento EP-A-0378881.
- 40 [36] Documento EP-A-0427347.  
 [37] Documento WO93/17712  
 [38] Documento WO94/03208.  
 [39] Documento WO98/58668.  
 [40] Documento EP-A-0471177.
- 45 [41] Documento WO91/01146  
 [42] Falugi et al. (2001) *Eur J Immunol* 31:3816-3824.  
 [43] Baraldo et al. (2004) *Infect Immun* 72(8):4884-7.  
 [44] Documento EP-A-0594610.
- 50 [45] Ruan et al. (1990) *J Immunol* 145:3379-3384.  
 [46] Documento WO00/56360.  
 [47] Kuo et al. (1995) *Infect Immun* 63:2706-13.  
 [48] Documento WO02/091998.  
 [49] Documento WO01/72337  
 [50] Documento WO00/61761.
- 55 [51] Lees et al. (1996) *Vaccine* 14:190-198.  
 [52] Documento WO95/08348.  
 [53] Documento WO98/42721.

- [54] Documento US patent 4,882,317  
[55] Documento US patent 4,695,624  
[56] European patent 0477508.  
[57] Porro et al. (1985) *Mol Immunol* 22:907-919.
- 5 [58] Documento EP-A-0208375  
[59] Documento WO00/10599  
[60] Gevert et al. *Med. Microbiol. Immunol*, 165 : 171-288 (1979).  
[61] Documento US patent 4,057,685.  
[62] Documento US patents 4,673,574; 4,761,283; 4,808,700.
- 10 [63] Documento US patent 4,459,286.  
[64] Documento US patent 4,965,338  
[65] Documento US patent 4,663,160.  
[66] Documento US patent 4,761,283  
[67] Documento US patent 4,356,170
- 15 [68] W.H.O. Tech. Rep. Ser. 594:51, 1976.  
[69] Documento WO99/42130  
[70] Documento US patent 4,711,779.  
[71] Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 20th ed. ISBN: 0683306472.  
[72] Nony et al. (2001) *Vaccine* 27:3645-51.
- 20 [73] Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (eds. Powell & Newman) Plenum Press 1995 (ISBN 0-306-44867-X).

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de una pluralidad de conjugados meningocócicos en la fabricación de una vacuna conjugada meningocócica multivalente para proporcionar inmunidad contra los serogrupos A, C, W135 e Y de *N. meningitidis* mediante la administración a un paciente en un esquema de inmunización que comprende: (a) la administración de la vacuna al paciente cuando el paciente tiene una edad comprendida entre los 0 y los 12 meses, hasta, pero sin incluir el primer cumpleaños del paciente y (b) la administración de la vacuna al paciente cuando el paciente tiene una edad comprendida entre los 12 y los 24 meses, donde la vacuna incluye sacáridos capsulares de los cuatro serogrupos meningocócicos A, C, W 135 e Y.
- 10 2. Uso de una pluralidad de conjugados meningocócicos en la fabricación de una vacuna conjugada meningocócica multivalente para proporcionar inmunidad contra los serogrupos A, C, W135 e Y de *N. meningitidis* mediante la administración a un paciente que tiene una edad comprendida entre los 12 y 24 meses y que previamente ha recibido la vacuna cuando el paciente tenía una edad comprendida entre los 0 y 12 meses, hasta, pero sin incluir el primer cumpleaños del paciente, donde la vacuna incluye sacáridos capsulares de los cuatro serogrupos meningocócicos A, C, W 135 e Y.
- 15 3. Un kit que comprende: (a) una vacuna conjugada meningocócica multivalente y (b) instrucciones para la administración de la vacuna de acuerdo con un esquema que incluye: (a) administrar primero la vacuna a un paciente cuando el paciente tiene una edad comprendida entre los 0 y los 12 meses, hasta, pero sin incluir el primer cumpleaños del paciente y (b) administrar posteriormente la vacuna al paciente cuando el paciente tiene una edad comprendida entre los 12 y los 24 meses, donde la vacuna incluye sacáridos capsulares de los cuatro serogrupos meningocócicos A, C, W 135 e Y.
- 20 4. El uso o kit de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que los sacáridos tienen el siguiente intervalo de grados promedio de polimerización: serogrupo A, 10-20; serogrupo C, 12-22; serogrupo W135, 15-25 y serogrupo Y, 15-25.
- 25 5. El uso o kit de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que las proteínas vehículo de los conjugados son el toxoide de la difteria, el toxoide del tétanos, CRM197 o la proteína D de *H. influenzae*.
6. El uso o kit de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la cantidad de antígeno meningocócico por serogrupo en la vacuna está entre 1 µg y 20 µg.
7. El uso o kit de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que una dosis en el período de 0-12 meses y una dosis en el período de 12-24 meses se administran con una diferencia de ≥6 meses.
- 30 8. El uso o kit de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que una dosis en el período de 0-12 meses no se administra antes de las 6 semanas de edad.
9. El uso o kit de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que una dosis en el período de 0-12 meses se administra a los 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses o 6 meses de edad.
- 35 10. El uso o kit de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que una dosis en el período de 12-24 meses se administra a una edad comprendida entre los 12-15 meses de edad.
11. El uso o kit de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que una dosis en el período de 12-24 meses se administra a una edad comprendida entre los 15-18 meses de edad.
- 40 12. El uso o kit de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que una dosis en el período de 0-12 meses se administra al mismo tiempo que una vacuna contra el virus de la hepatitis B, una vacuna contra la difteria, una vacuna contra el tétanos, una vacuna contra la tos ferina, una vacuna contra *Haemophilus influenzae* tipo b, una vacuna contra *Streptococcus pneumoniae* y/o una vacuna contra la poliomielitis.
- 45 13. El uso o kit de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que una dosis en el período de 12-24 meses se administra al mismo tiempo que una vacuna contra el virus de la hepatitis B, una vacuna contra la difteria, una vacuna contra el tétanos, una vacuna contra la tos ferina, una vacuna contra *Haemophilus influenzae* tipo b, una vacuna contra *Streptococcus pneumoniae*, una vacuna contra la poliomielitis, una vacuna contra la gripe, una vacuna contra la varicela, una vacuna contra el sarampión, una vacuna contra las paperas y/o una vacuna contra la rubéola.
14. El uso o kit de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la vacuna conjugada meningocócica multivalente no contiene adyuvantes.