

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 388 690**

51 Int. Cl.:
A61K 39/385 (2006.01)
A61K 39/295 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08153845 .6**
96 Fecha de presentación: **28.03.2002**
97 Número de publicación de la solicitud: **1946771**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.07.2008**

54 Título: **Composición de vacuna multivalente**

30 Prioridad:
03.04.2001 GB 0108364

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.10.2012

73 Titular/es:
GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.
RUE DE L'INSTITUT, 89
1330 RIXENSART, BE

72 Inventor/es:
Boutriau, Dominique;
Capiau, Carine;
Desmons, Pierre Michel;
Lemoine, Dominique y
Poolman, Jan

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

ES 2 388 690 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

Composición de vacuna multivalente

La presente invención se refiere a nuevas formulaciones de vacuna de combinación. Las vacunas de combinación (que proporcionan protección frente a múltiples patógenos) son muy deseables para minimizar el número de inmunizaciones requeridas para conferir protección frente a múltiples patógenos para reducir los costes de administración y aumentar la aceptación y las tasas de cobertura. El fenómeno bien documentado de la competición (o interferencia) antigénica complica el desarrollo de vacunas multi-componente. La interferencia antigénica se refiere a la observación de que la administración de múltiples antígenos frecuentemente da como resultado una disminución de la respuesta a determinados antígenos respecto a la respuesta inmunitaria observada cuando dichos antígenos se administran individualmente. Su aparición a la hora de preparar nuevas combinaciones de antígenos es impredecible (Rappuoli et al (1996), *Vaccine*, 14(7):691-700).

Las vacunas de combinación se sabe que pueden prevenir la infección por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae* y opcionalmente el virus de la hepatitis B y/o *Haemophilus influenzae* tipo b (véase, por ejemplo, los documentos WO 93/24148; WO 97/00697; WO 99/48525; WO 99/13906; EP 0594950; Andre (1999), *Vaccine*, 17:1620-1627; Poolman et al (2001), *Vaccine*, 19:2280-2285; and Pines et al (1999), *Vaccine*, 17:1650-1656; las combinaciones divulgadas incluyen DTPa-HBV, DTPa-HBV-IPV, DTPa/Hib, DTPa-HBV/Hib y DTPa-IPV-HBV/Hib, pero no vacunas a base de DTP que tienen valencias de *N. meningitidis* (Men). El uso de antígenos conjugados con Men se conoce, por ejemplo, de Paradiso y Lindberg (1996), *Developments in Biological Standardization*, 87:269-275.

La presente invención se refiere a la fabricación de las vacunas multivalentes más ambiciosas desarrolladas hasta la fecha, cuya administración puede evitar o tratar la infección por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, poliovirus y *N. meningitidis* y preferiblemente también *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y/o virus de la hepatitis A, en donde los componentes de la vacuna no interfieren significativamente con la eficacia inmunológica de cualquiera de los componentes de la vacuna.

Por consiguiente, en un aspecto de la invención se proporciona una composición inmunogénica multivalente para conferir protección a un hospedador contra la enfermedad causada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, poliovirus y *N. meningitidis* que comprende:

- (a) componentes acelulares de pertussis (Pa) que comprende toxina pertussis y FHA,
- (b) toxina tetánica (TT o T),
- (c) toxina de la difteria (DT o D),
- (d) antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HepB o HB),
- (e) poliovirus inactivado (IPV) y
- (f) uno o ambos conjugados de una proteína transportadora y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo de *N. meningitidis* tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* tipo C (MenC) y
- (g) opcionalmente un conjugado de una proteína transportadora y el polisacárido u oligosacárido capsular de *H. influenzae* tipo B (Hib).

La composición inmunogénica puede comprender además uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis componentes seleccionados de la siguiente lista: polisacárido de *N. meningitidis* tipo A [MenA] (preferiblemente conjugado), polisacárido de *N. meningitidis* tipo W [MenW] (preferiblemente conjugado), el polisacárido Vi de *Salmonella typhi*, vesículas de la membrana externa de *N. meningitidis* (preferiblemente serotipo B), una o más proteínas (expuestas a la superficie) de la membrana externa de *N. meningitidis* (preferiblemente serotipo B) y virus de la hepatitis A muertos atenuados (HepA – preferiblemente el producto conocido como 'Havrix™' [SmithKline Beecham Biologicals]) sin problemas de interferencia sustancial con ninguno de los antígenos de la composición.

Además, en la presente invención se divulgan varios kits ventajosos que comprenden dos o tres composiciones inmunogénicas multivalentes, siendo dichos kits capaces de conferir protección a un hospedador contra la enfermedad causada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, poliovirus y *Streptococcus pneumoniae* y opcionalmente también *N. meningitidis* y *Haemophilus influenzae*.

Un kit de este tipo puede comprender dos composiciones inmunogénicas multivalentes para conferir protección a un hospedador contra la enfermedad causada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, poliovirus y *Streptococcus pneumoniae* y opcionalmente también *N. meningitidis* y *Haemophilus influenzae*.

Dicho kit comprende un primer envase que comprende:

- (a) Células enteras muertas de *Bordetella pertussis* (Pw) o dos o más componentes acelulares de pertussis (Pa) [preferiblemente los últimos],
- (b) toxina tetánica (TT o T),
- (c) toxina de la difteria (DT o D),

- (d) antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HepB o HB) y
- (e) poliovirus inactivado (IPV)

y un segundo envase que comprende:

- 5 (2a) uno o ambos conjugados de una proteína transportadora y un polisacárido capsular de *Streptococcus pneumoniae* [donde el polisacárido capsular se selecciona preferiblemente de un *serotipo* neumocócico seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F].

- 10 En otras realizaciones ventajosas del kit anteriormente descrito, el primer envase comprende adicionalmente: (f) uno o ambos conjugados de una proteína transportadora y un polisacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* tipo C (MenC) y (g) un conjugado de una proteína transportadora y el polisacárido capsular de *H. influenzae* tipo B (Hib) o el segundo envase comprende adicionalmente: (2b) uno o ambos conjugados de una proteína transportadora y un polisacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* tipo C (MenC) y (2c) un conjugado de una proteína transportadora y el polisacárido capsular de *H. influenzae* tipo B (Hib); o el primer envase comprende
- 15 adicionalmente: (f) uno o ambos conjugados de una proteína transportadora y un polisacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* tipo C (MenC) y el segundo envase comprende adicionalmente (2b) un conjugado de una proteína transportadora y el polisacárido capsular de *H. influenzae* tipo B (Hib) o el primer envase comprende adicionalmente (f) un conjugado de una proteína transportadora y el polisacárido capsular de *H. influenzae* tipo B (Hib) y el segundo envase comprende
- 20 adicionalmente: (2b) uno o ambos conjugados de una proteína transportadora y un polisacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* tipo C (MenC).

En otra alternativa, dicho kit puede comprender dos composiciones inmunogénicas multivalentes para conferir protección a un hospedador contra la enfermedad causada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, poliovirus, *N. meningitidis* y *Haemophilus influenzae*.

- 25 Dicho kit comprende un primer envase que comprende:

- (a) Células enteras muertas de *Bordetella pertussis* (Pw) o dos o más componentes acelulares de pertussis (Pa) [preferiblemente los últimos],
- (b) toxina tetánica (TT o T),
- (c) toxina de la difteria (DT o D),
- 30 (d) antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HepB o HB) y
- (e) poliovirus inactivado (IPV)

y un segundo envase que comprende:

- (2a) uno o ambos conjugados de una proteína transportadora y un polisacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* tipo C (MenC) y
- 35 (2b) un conjugado de una proteína transportadora y el polisacárido capsular de *H. influenzae* tipo B (Hib).

En otra realización, el kit divulgado puede comprender tres composiciones inmunogénicas multivalentes para conferir protección a un hospedador contra la enfermedad causada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, poliovirus y *N. meningitidis*, *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*.

- 40 Dicho kit comprende un primer envase que comprende:

- (a) Células enteras muertas de *Bordetella pertussis* (Pw) o dos o más componentes acelulares de pertussis (Pa) [preferiblemente los últimos],
- (b) toxina tetánica (TT o T),
- (c) toxina de la difteria (DT o D),
- 45 (d) antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HepB o HB) y
- (e) poliovirus inactivado (IPV),

y un segundo envase que comprende:

- 50 (2a) uno o más conjugados de una proteína transportadora y un polisacárido capsular de *Streptococcus pneumoniae* [donde el polisacárido capsular se selecciona preferiblemente de un *serotipo* neumocócico seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F],

y un tercer envase que comprende:

(3a) uno o ambos conjugados de una proteína transportadora y un polisacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* tipo Y (MenY) and *N. meningitidis* tipo C (MenC) y

(3b) un conjugado de una proteína transportadora y el polisacárido capsular de *H. influenzae* tipo B (Hib).

5 Cualquiera de los envases anteriores de los kits anteriores puede comprender además uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete componentes seleccionados de la siguiente lista: polisacárido de *N. meningitidis* tipo A [MenA] (preferiblemente conjugado), polisacárido de *N. meningitidis* tipo W [MenW] (preferiblemente conjugado), el polisacárido Vi de *Salmonella typhi*, vesículas de la membrana externa de *N. meningitidis* (preferiblemente serotipo B), una o más proteínas (expuestas a la superficie) de la membrana externa de *N. meningitidis* (preferiblemente serotipo B), HepA (como se ha descrito anteriormente) y una o más proteínas de *S. pneumoniae* (preferiblemente expuestas a la superficie) sin problemas de interferencia sustancial con ninguno de los antígenos de la composición.

Los envases del kit pueden envasarse por separado o, preferiblemente, juntos. Preferiblemente el kit se facilita con una lista de instrucciones para la administración de las vacunas en los dos o más envases.

Cuando un envase de un kit contiene un determinado conjugado de polisacárido, se prefiere que el mismo conjugado no esté presente en los otros envases del kit.

15 Los inventores han descubierto sorprendentemente que un kit divulgado como el anterior presenta ventajosamente los diversos antígenos contra un sistema inmunitario del hospedador de forma óptima. El kit proporciona a un médico un método óptimo de inmunización de un hospedador con una o más de las siguientes ventajas (preferiblemente 2 ó 3 y más preferiblemente todas): eficacia protectora para todos los antígenos, mínima reactogenicidad, mínima interferencia de supresión de la proteína transportadora, mínima interferencia adyuvante/antígeno o mínima interferencia antígeno/antígeno. De esta manera, estos objetivos se pueden alcanzar con el número mínimo (dos) administraciones, ocurriendo preferiblemente en la misma visita al médico.

Aunque en una realización preferida de la divulgación, las vacunas del primer y segundo (y tercero cuando proceda) envases se administran concomitantemente en diferentes sitios (como se describe posteriormente), en una realización alternativa, los inventores contemplan que el contenido del primer y del segundo envase se puedan mezclar (preferiblemente extemporáneamente) antes de la administración como una vacuna individual.

Los antígenos de la invención

Los procedimientos de preparación de la toxina tetánica (TT) son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, TT se produce preferiblemente por purificación de la toxina a partir de un cultivo de *Clostridium tetani* seguido de destoxificación química, aunque alternativamente se produce por purificación de un análogo recombinante o genéticamente destoxificado de la toxina (por ejemplo, como se describe en el documento EP 209281). 'Toxina tetánica' también abarca fragmentos inmunogénicos de la proteína de longitud completa (por ejemplo, Fragmento C – véase el documento EP 478602).

Los procedimientos de preparación de la toxina de la difteria (DT) también son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, DT se produce preferiblemente por purificación de la toxina a partir de un cultivo de *Corynebacterium diphtheriae* seguido de destoxificación química, aunque alternativamente se produce por purificación de un análogo recombinante o genéticamente destoxificado de la toxina (por ejemplo, CRM197, u otros mutantes, como se describe en los documentos US-4.709.017, US-5.843.711, US-5.601.827 y US-5.917.017).

Los componentes acelulares de pertussis (Pa) son bien conocidos en la técnica. Ejemplos incluyen toxina de pertussis (PT), hemaglutinina filamentosa (FHA), pertactina (PRN) y aglutinógenos 2 y 3. Estos antígenos están parcialmente o altamente purificados. Preferiblemente se usan 2 o más componentes acelulares de pertussis en la vacuna. Más preferiblemente se incorporan en la vacuna 2, 3, 4 o los 5 ejemplos anteriores de componentes acelulares de pertussis. Más preferiblemente se incluyen PT, FHA y PRN. PT se puede producir de diversas maneras, por ejemplo, por purificación de la toxina de un cultivo de *B. pertussis* seguido de destoxificación química o alternativamente por purificación de un análogo genéticamente destoxificado de PT (por ejemplo, como se describe en el documento US-5.085.862).

Procedimientos de preparación de células enteras de *Bordetella pertussis* (Pw) muertas para esta invención se divulgan en el documento WO 93/24148, como procedimientos de formulación adecuados para producir vacunas DT-TT-Pw-HepB y DT-TT-Pa-HepB.

El poliovirus inactivado (IPV) preferiblemente comprende los tipos 1, 2 y 3 como es lo habitual en la técnica de vacunas. Más preferiblemente es la vacuna de la polio de Salk.

55 Generalmente, la vacuna de *Streptococcus pneumoniae* de la presente divulgación comprenderá antígenos polisacáridos (preferiblemente conjugados), en donde los polisacáridos proceden de al menos cuatro serotipos de neumococos elegidos del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F. Preferiblemente los cuatro serotipos incluyen 6B, 14, 19F y 23F. Más preferiblemente se incluyen al menos 7 serotipos en la composición, por ejemplo, los derivados de los serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F. Más preferiblemente se incluyen más de 7 serotipos en la composición, por ejemplo, al

menos 11 serotipos. Por ejemplo, la composición en una realización incluye 11 polisacáridos capsulares derivados de los serotipos 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F (preferiblemente conjugados). En una realización preferida de la divulgación, se incluyen al menos 13 antígenos polisacáridos (preferiblemente conjugados), aunque también se contemplan otros antígenos polisacáridos, por ejemplo, 23 valente (tales como los serotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F).

Para la vacunación de ancianos (por ejemplo, para la prevención de la neumonía), es ventajoso incluir los serotipos 8 y 12F (y más preferiblemente los 15 y 22 también) a la composición antigénica 11 valente preferida descrita anteriormente para formar una vacuna 13/15 valente, mientras que para los lactantes o niños pequeños (donde la otitis media es más preocupante) se incluyen ventajosamente los serotipos 6A y 19A para formar una vacuna 13 valente.

Conjugados

Los conjugados polisacáridos capsulares bacterianos pueden comprender cualquier péptido, polipéptido o proteína transportadora que comprende al menos un epítipo de un linfocito T cooperante. Preferiblemente, la proteína(s) transportadora utilizada se selecciona del grupo que comprende: toxina tetánica, toxina de la difteria, CRM 197, toxina de la difteria recombinante (como se describe en cualquiera de los documentos US-4.709.017, WO 93/25210, WO 95/33481 o WO 00/48638), neumolisina (preferiblemente químicamente destoxificada o un mutante destoxificado) de *S. pneumoniae*, OMPC de *N. meningitidis* y la proteína D de *H. influenzae* (EP 594610). Debido al efecto conocido de la supresión de la proteína transportadora, es ventajoso que en cada una de las composiciones de la invención los antígenos polisacáridos contenidos en las mismas (antígenos 'n') se conjuguen con más de una proteína transportadora. Por lo tanto (n-1) de los polisacáridos podrían transportarse (por separado) en un tipo de proteína transportadora y 1 en una proteína transportadora diferente o (n-2) en una y 2 en dos diferentes proteínas transportadoras, etc. Por ejemplo, en una vacuna que contiene 4 conjugados polisacáridos bacterianos, 1, 2 o los cuatro podrían estar conjugados con diferentes proteínas transportadoras). Sin embargo, la proteína D se usa ventajosamente como una proteína transportadora en las composiciones de la invención, ya que se podría usar para varios (2, 3, 4 o más) polisacáridos en una composición sin un efecto de supresión marcado de la proteína transportadora. Más preferiblemente, Hib está presente como un conjugado con TT, los polisacáridos neumocócicos son proteínas D, DT o conjugados con CRM197 y MenA, MenC, MenY y MenW son conjugados con TT o PD. La proteína D también es una proteína transportadora útil, ya que proporciona otro antígeno que puede conferir protección contra *H. influenzae*.

El polisacárido se puede unir a la proteína transportadora mediante cualquier procedimiento conocido (por ejemplo, Likhite, patente US-4.372.945 y Armor et al., patente US-4.474.757). Preferiblemente, se lleva a cabo la conjugación (WO 95/08348).

En CDAP, se utiliza preferiblemente el reactivo cianilante tetrafluoroborato de 1-ciano-dimetilaminopiridinio (CDAP) para la síntesis de conjugados polisacárido-proteína. La reacción de cianilación se puede realizar en condiciones relativamente suaves, lo que evita la hidrólisis de los polisacáridos sensibles a álcalis. Esta síntesis permite el acoplamiento directo a una proteína vehículo.

Propiedades de las composiciones inmunogénicas de la invención

Las composiciones inmunogénicas de la invención se formulan preferiblemente como una vacuna para la administración *in vivo* al hospedador de tal forma que los componentes individuales de la composición se formulan de tal manera que la inmunogenicidad de los componentes individuales no se ve sustancialmente afectada por otros componentes individuales de la composición. Por no sustancialmente afectada, se entiende que con la inmunización, se obtiene un título de anticuerpos (por ej., IgG) contra cada componente, lo que es más del 60%, preferiblemente más del 70%, más preferiblemente más del 80%, aún más preferiblemente del 90% y más preferiblemente aún más del 95-100% del título obtenido cuando el antígeno se administra aisladamente.

Y lo que es más interesante, con las combinaciones de kit descritas más arriba, es posible, con la inmunización obtener títulos de anticuerpos contra el polisacárido capsular Hib o algunos polisacáridos neumocócicos cercanos, o superiores, al 100% de los títulos obtenidos cuando el antígeno se administra aisladamente.

Formulaciones de vacuna

Las composiciones inmunogénicas de la invención se formulan preferiblemente como una vacuna para la administración *in vivo* al hospedador, de tal forma que confieran un título de anticuerpos superior al criterio para la seroprotección para cada componente antigénico para un porcentaje aceptable de los sujetos humanos. Esta es una prueba importante en la evaluación de la eficacia de una vacuna dirigida a toda la población. Los antígenos con un título de anticuerpos asociado por encima de lo que se considera seroconversión en un hospedador contra el antígeno son bien conocidos, y dichos títulos se publican por organizaciones, tales como la OMS. Preferiblemente, más del 80% de una muestra estadísticamente significativa de sujetos son seroconvertidos, más preferiblemente más del 90%, más preferiblemente aún más del 93% y más preferiblemente 96-100%.

Las composiciones inmunogénicas de la invención contienen preferiblemente adyuvantes. Adyuvantes adecuados incluyen una sal de aluminio, tal como gel de hidróxido de aluminio (alum) o fosfato de aluminio, pero también puede ser una sal de calcio, hierro o zinc o pueden ser una suspensión insoluble de tirosina acilada o azúcares acilados, polisacáridos derivados catiónicamente o aniónicamente o polifosfatos.

- 5 El adyuvante también se puede seleccionar para que sea un inductor preferencial de un tipo TH1 de respuesta para facilitar la respuesta inmunitaria celular.

Altos niveles de citocinas de tipo Th1 tienden a favorecer la inducción de la respuesta inmunitaria celular a un antígeno dado, mientras que altos niveles de citocinas de tipo Th2 tienden a favorecer la inducción de la respuesta inmunitaria humoral al antígeno.

- 10 Sistemas adyuvantes adecuados que pueden promover una respuesta predominantemente Th1 incluyen, el monofosforil lípido A o un derivado del mismo, particularmente el 3-des-O-acilado monofosforil lípido A y una combinación de monofosforil lípido A, preferiblemente el 3-des-O-acilado monofosforil lípido A (3D-MPL) junto con una sal de aluminio. Un sistema reforzado implica la combinación de un monofosforil lípido A y un derivado de saponina, particularmente la combinación de QS21 y 3D-MPL divulgada en el documento WO 94/00153 o una
 15 composición menos reatogénica donde el QS21 se neutraliza con colesterol, como se describe en el documento WO 96/33739. Una formulación con adyuvante particularmente potente que incluye QS21, 3D-MPL y tocoferol en una emulsión aceite en agua se describe en el documento WO 95/17210. La vacuna puede comprender adicionalmente una saponina, más preferiblemente QS21. La formulación puede comprender también una emulsión aceite en agua y tocoferol (WO 95/17210). Los oligonucleótidos que contienen CpG no metilados (WO 96/02555)
 20 también son inductores preferenciales de una respuesta TH1 y son adecuados para su uso en la presente invención.

- Las sales de aluminio son adyuvantes preferidos en las composiciones inmunogénicas anteriores. En particular, HepB debería adsorberse preferiblemente a un fosfato de aluminio antes de mezclar con el resto de componentes. Pertactina se adsorbe preferiblemente en hidróxido de aluminio antes de mezclar con el resto de componentes. Con el fin de minimizar los niveles de adyuvante (especialmente las sales de aluminio) en las composiciones de la
 25 invención, los conjugados de polisacárido pueden no contener adyuvantes.

La presente invención también proporciona un procedimiento para la producción de una formulación de vacuna que comprende el paso de mezcla de los componentes de la vacuna junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

- Una composición de DTPa especialmente preferida de la invención comprende: TT, DT, Pa (que comprende PT, FHA y opcionalmente PRN, estando PRN preferiblemente adsorbido en hidróxido de aluminio), HepB (preferiblemente adsorbido en fosfato de aluminio), IPV, MenC (preferiblemente conjugado con cualquiera de proteína D, TT, DT o CRM197), y, opcionalmente, MenY (preferiblemente conjugado con cualquiera de proteína D, TT, DT o CRM197). La composición puede comprender también opcionalmente Hib (preferiblemente conjugado con proteína TT y/o no adsorbido en adyuvante). Preferiblemente, la vacuna se puede suministrar en 2 viales, conteniendo el primero DTPa-IPV-HepB en una forma líquida y un segundo que contiene MenC (y opcionalmente MenY y/o Hib) en una forma liofilizada, preferiblemente en presencia de un agente antiaglomerante, tal como sacarosa, lactosa o trehalosa. El contenido de los viales se puede mezclar extratemporáneamente en un único envase antes de administrar a un hospedador en una única administración/inyección. Esta composición también se puede usar en un kit descrito anteriormente (el contenido del primer envase).
 35

- 40 Para los fines de los kits que comprenden un envase que comprenden Hib (preferiblemente conjugado con TT y/o no adsorbido en un adyuvante) y/o cualquiera o ambos de MenC y MenY (preferiblemente conjugado con cualquiera de proteína D, TT, DT o CRM197 y/o no adsorbido en un adyuvante), esta composición se conserva preferiblemente en una forma liofilizada, preferiblemente en presencia de un agente antiaglomerante, tal como sacarosa, lactosa o trehalosa.

- 45 Para el fin de las composiciones de DTPa de la invención que comprenden un envase que comprende DTPa y Hib y/o uno cualquiera o ambos de MenC y MenY, donde los componentes Hib y/o Men se conjugan con TT, es preferible equilibrar el contenido de TT en la vacuna, de tal forma que el contenido total de TT en un único envase no sea más de un umbral crítico (tal como 40, 45, 50, 60, 70 ó 80 µg de TT) para reducir, minimizar o evitar la interferencia inmunitaria de TT o la supresión de la proteína transportadora de los polisacáridos conjugados con TT.
 50 Preferiblemente, este umbral es 50 µg. Los inventores han descubierto que la relación polisacárido:TT se puede reducir en los conjugados anteriores hasta 1:0,5-1,5 en peso (preferiblemente 1:0,6-1,2, más preferiblemente aproximadamente 1:1) siendo beneficiosa en este sentido. Por ejemplo, en una vacuna de DTPa-HB-IPV-Hib(TT)-MenC(TT), la cantidad de TT en DTPa debería preferiblemente reducirse por debajo de una cantidad estándar típica (preferiblemente aproximadamente de uno a tres cuartas partes, más preferiblemente aproximadamente la mitad de la cantidad habitual) hasta, por ejemplo, 10-30 µg de TT, preferiblemente 20-25 µg de TT. Por ejemplo, si la cantidad de TT conjugada con Hib es de aproximadamente 12 µg de TT y la cantidad conjugada con MenC es de aproximadamente 5 µg de TT y la cantidad de TT no conjugada es 24 µg, entonces la TT total sería aproximadamente 41 µg.
 55

Una composición de Hib / polisacárido neumocócico particularmente preferida de acuerdo con la presente divulgación (para uso independiente o como el contenido del segundo envase de uno de los kits descritos anteriormente) comprende: Hib (preferiblemente conjugado con TT y/o no adsorbido en adyuvante) y múltiples conjugados de polisacáridos neumocócicos (por ejemplo, más de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ó 11) (por ejemplo, aquellas combinaciones descritas en el párrafo 'la vacuna de *Streptococcus pneumoniae* de la presente divulgación' anterior). Más preferiblemente se incluyen 11 polisacáridos (de los serotipos 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F). Preferiblemente se conjugan polisacáridos neumocócicos con PD, DT, CRM197 o TT. En una realización preferida, el antígeno polisacárido Hib no está adsorbido en un adyuvante, particularmente las sales de aluminio. Aunque el antígeno(s) polisacárido neumocócico puede tener un adyuvante (preferiblemente fosfato de aluminio), también puede estar no adsorbido en un adyuvante, particularmente sales de aluminio. En una realización particular, no hay presente sal adyuvante de aluminio en la composición. En las composiciones divulgadas se pueden incluir otros antígenos (por ejemplo, conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis* tipo C [preferiblemente conjugado con cualquiera de proteína D, TT, DT o CRM197 y/o no adsorbido en un adyuvante]), sin embargo, en una realización alternativa, los conjugados de Hib y polisacárido neumocócico son los únicos antígenos presentes en la composición. En una realización específica adicional de las formulaciones anteriormente divulgadas, los conjugados de Hib y polisacáridos neumocócicos no están conjugados con la misma proteína transportadora (especialmente la proteína transportadora es CRM197).

La vacuna se puede suministrar en un envase (con el contenido en forma líquida o liofilizada) o en dos viales, conteniendo el primer envase Hib (preferiblemente liofilizado), conteniendo el segundo los antígenos neumocócicos (preferiblemente en forma líquida). Las composiciones liofilizadas están preferiblemente en presencia de un agente antiaglomerante, tal como sacarosa, lactosa o trehalosa. El contenido de los viales se puede mezclar extemporáneamente en un único envase antes de administrar a un hospedador en una única administración/inyección. Con una formulación de este tipo, es posible, con la inmunización obtener títulos de anticuerpos contra el polisacárido capsular Hib cercanos, o más frecuentemente superiores al 100% de los títulos obtenidos cuando el antígeno se administra aisladamente. En realizaciones preferidas, no se produce ningún efecto (significativamente) detrimental con los conjugados polisacáridos neumocócicos (en términos de eficacia protectora) en la combinación, comparado con su administración aislada. Este se puede evaluar en términos de medición de la media geométrica de las concentraciones (GMC) del anticuerpo anti-polisacárido 1 mes después de la dosis principal (las dosis principales son las administraciones de sensibilización, habitualmente 3, en el primer año de vida). La GMC (en $\mu\text{g/ml}$) para una vacuna de la invención debería ser preferiblemente más del 55% (más preferiblemente más del 60, 70, 80 ó 90%) de la GMC cuando los polisacáridos neumocócicos se administran sin el conjugado Hib. Otra indicación de que no se ha producido efecto detrimental es si el % de los sujetos con concentraciones de anticuerpos de no menos de $0,5 \mu\text{g/ml}$ difiere en no más del 10% (preferiblemente menos de 9, 7, 5, 3 o 1%) cuando se compara con 1 mes después de las administraciones principales de la vacuna divulgada frente a la vacuna sin conjugado Hib.

Aunque lo anterior se refiere a 'polisacáridos' de Hib, neumocócicos y meningocócicos, se contempla que la invención se pueda ampliar a 'polisacáridos de un determinado tamaño' y 'oligosacáridos' (polisacáridos reducidos en tamaño para su manejabilidad, los cuales son todavía capaces de inducir una respuesta inmunitaria protectora en un hospedador), los cuales son bien conocidos en la técnica de las vacunas (véase, por ejemplo, EP 497525). Ventajosamente, MenY puede estar presente como un conjugado de oligosacárido con el oligosacárido 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8 ó 0,9 veces el peso molecular del polisacárido nativo.

En la presente invención, se divulga una composición inmunogénica o vacuna como la descrita en la presente invención para su uso en un medicamento.

En un aspecto de la invención, se proporciona el uso de las composiciones inmunogénicas de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedades causadas por la infección por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, poliovirus y *N. meningitidis* (y opcionalmente *H. influenzae*). Se divulga el uso de las composiciones inmunogénicas de la invención en la fabricación de un kit de vacuna para para el tratamiento o prevención de enfermedades causadas por la infección por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B virus, poliovirus, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *N. meningitidis*.

Además, también se divulga un procedimiento de inmunización de un hospedador humano contra una enfermedad causada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, poliovirus y *N. meningitidis* (y opcionalmente *H. influenzae*), cuyo procedimiento comprende la administración al hospedador de una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica divulgada.

Otro aspecto de la divulgación se refiere a un procedimiento de inmunización de un hospedador humano contra una enfermedad causada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, poliovirus y uno o más de *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *N. meningitidis*, con los kits descritos más arriba, cuyo procedimiento implica una pauta de administración concomitante como se define a continuación.

Pauta de administración concomitante

Un esquema de este tipo comprende el paso de administrar a un hospedador una dosis inmunoprotectora de una composición inmunogénica de un primer envase de un kit (por ejemplo uno de los kits divulgados en la presente invención) en un sitio diferente drenado por ganglios linfáticos diferentes al sitio en el cual se administra la composición inmunogénica del segundo (o tercer) envase del kit. Preferiblemente, los sitios diferentes son miembros diferentes. Preferiblemente, la administración de las vacunas se produce con una diferencia de 24 horas entre sí, más preferiblemente en el mismo día, y más preferiblemente en la misma visita del hospedador al médico. Preferiblemente, el hospedador se sensibiliza posteriormente con ambas (o todas) las vacunas de la misma forma una o más (preferiblemente 2) veces más, con un intervalo cada vez de 2-12 semanas (preferiblemente aproximadamente 1 mes). Frecuentemente también se puede administrar una tercera administración de sensibilización entre 2 semanas y 7 semanas después de la segunda administración. Por ejemplo, la vacuna se puede administrar como se ha señalado anteriormente de acuerdo con un esquema de administración normal para las vacunas DTP (como un sistema de tres visitas, estando cada visita separada por 1 mes, por ejemplo, una pauta a los 3, 4 y 5 meses de edad o una pauta a los 3, 5 y 11 o a los 3, 5 y 12 meses de edad). Una pauta de administración de este tipo permite la optimización de la respuesta inmunitaria contra los antígenos en ambos (o todos) los envases del kit.

Una administración de refuerzo de las vacunas se puede administrar de la misma forma en cualquier momento a partir del segundo año de vida hasta la fase adulta. Aunque la sensibilización se hace preferiblemente a través de la vía intramuscular, el refuerzo se puede llevar a cabo ventajosamente por vía mucosal, opcionalmente en presencia de un adyuvante mucosal (preferiblemente laureth 9 o la toxina termolabil [LT] de *E. coli* y mutantes o fragmentos de la misma), (por ejemplo, la administración intranasal de las vacunas es sencilla y puede funcionar extremadamente bien, especialmente cuando el hospedador se sensibiliza parenteralmente) y el sitio de administración de las vacunas no tiene que drenar diferentes ganglios linfáticos.

También se divulga el uso de las composiciones inmunogénicas de la invención en envases en un método de fabricación de un kit de vacuna como se divulga en la presente invención para la administración concomitante.

Kits que comprenden TT en dos o más envases

Otro aspecto de la divulgación se refiere a kits de vacuna para la administración concomitante (como se define anteriormente) donde el contenido de TT de dos o más envases está equilibrado para reducir, minimizar o evitar ventajosamente la interferencia inmunitaria de TT o la supresión de la proteína transportadora de polisacáridos conjugados con TT. TT es un transportador extremadamente bueno, sin embargo, se sabe que tiene limitaciones si se usa en exceso en una composición de vacuna, especialmente si también está presente TT libre. Si se usa en exceso, todos los antígenos conjugados con TT presentan títulos de anticuerpos reducidos. Existe, por consiguiente, un problema distinto en la técnica sobre cómo utilizar TT en muchas áreas diferentes (por ejemplo, como antígeno libre y como transportador para muchos antígenos polisacáridos) dentro de una vacuna de combinación amplia sin las desventajas anteriores. Los presentes inventores han descubierto un método opcional para resolver este problema, y que es mediante la utilización de una pauta de administración concomitante (como se ha definido anteriormente) de un kit, una vacuna en un primer envase que comprende TT en una cantidad no superior a un umbral crítico donde se produzca interferencia inmunitaria o supresión de la proteína transportadora, de tal forma que la cantidad total de TT administrada concomitantemente está por encima de este umbral crítico y se minimiza la interferencia inmunitaria (o supresión de la proteína transportadora) (es decir, menos que si los componentes se han administrado en una inyección) y preferiblemente no ocurre en absoluto. El umbral crítico puede ser 40, 45, 50, 60, 70 ó 80 µg de TT y es preferiblemente de aproximadamente 50 µg de TT. La TT total máxima que se puede administrar es, por consiguiente, aproximadamente hasta una cantidad obtenida del número de envases del kit (dos o tres) multiplicada por el umbral crítico.

Por consiguiente, se divulga en la presente invención un kit que comprende dos (o tres) envases que comprenden dos (o tres) composiciones inmunogénicas para la administración concomitante que comprende cada una TT en una forma libre y/o conjugada, en donde la cantidad de TT en cada envase no es más de un umbral crítico para prevenir o minimizar los efectos de la interferencia inmunitaria (o la supresión de la proteína transportadora) de TT, pero que la TT total en todos los envases es superior a dicho umbral crítico.

Preferiblemente al menos uno de los envases debería incluir TT libre (no conjugada), más preferiblemente en el contexto de una vacuna multivalente de DTPa o DTPw. Aunque la cantidad de TT libre puede estar presente en aproximadamente niveles normales de aproximadamente 42 µg, otra ventaja del kit divulgado permite la presencia de cantidades más pequeñas (10-30 ó 10-20 µg, por ejemplo, 10, 15, 20, 25 ó 30 µg), aunque todavía se pueden obtener títulos de anticuerpo anti-TT óptimos con efectos mínimos (o ninguno) de interferencia inmunitaria o supresión de la proteína transportadora.

Preferiblemente al menos uno (pero posiblemente 2 ó 3) de los envases debería incluir al menos uno (pero posiblemente 2, 3, 4, 5, 6, 7 o más) polisacárido conjugado con TT. Cuando la TT libre está presente en un envase, se prefiere que al menos un polisacárido conjugado con TT esté en uno de los otros envases del kit. El polisacárido puede ser cualquiera descrito en esta solicitud, preferiblemente uno o mas polisacáridos neumocócicos (como se ha

descrito anteriormente) o MenC, MenY o Hib.

Preferiblemente el kit es cualquiera de los kits descritos anteriormente.

5 Preferiblemente uno, dos, tres o todos los conjugados polisacárido-TT presentes en el kit están presentes de tal manera, que la relación polisacárido:TT está reducida (comparado con los conjugados estándar) hasta 1:0,5-1,5 en peso (preferiblemente 1:0,6-1,2, más preferiblemente aproximadamente 1:1), de tal forma que los conjugados siguen siendo inmunológicamente funcionales, pero se minimizan o previenen los efectos de interferencia inmunitaria o supresión de la proteína transportadora.

10 Se divulga además un procedimiento de inmunización de un hospedador humano utilizando el kit anterior, donde el procedimiento comprende la administración de una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica del primer envase al hospedador en un primer sitio, administrando una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica del segundo envase al hospedador en un segundo sitio (y administrando opcionalmente una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica del tercer envase en un tercer sitio), en donde el primer y segundo (y tercer) sitios están drenados por diferentes ganglios linfáticos.

15 La administración concomitante debería llevarse a cabo como se ha descrito anteriormente. Preferiblemente el primer y segundo (y tercero) sitios representan miembros diferentes del hospedador. Preferiblemente la administración de las composiciones inmunogénicas del primer y segundo (y tercer) envases se produce el mismo día. Preferiblemente el hospedador se vacuna posteriormente de la misma manera una o más veces, cada vez con intervalos de 2-12 semanas, más preferiblemente dos veces más, cada vez con un intervalo de aproximadamente un período de 1-2 meses.

20 Kits que comprenden DT o CRM 197 en dos o más envases

Otro aspecto más de la divulgación se refiere a kits de vacuna para la administración concomitante (como se ha definido anteriormente) donde el contenido de DT (incluyendo DT y cualquier mutante inmunológicamente idéntico, tal como CRM197) de dos o más envases están ventajosamente equilibrados para potenciar los títulos de anticuerpos anti-polisacárido conjugado con DT (o CRM197) a la vez que se minimiza la reactogenicidad (es decir, menor reactogenicidad que si los componentes de los envases se administrasen en una única inyección). DT y CRM197 son extremadamente buenos transportadores, sin embargo, se sabe que DT contribuye en gran medida a la reactogenicidad de las vacunas que la contienen. Los presentes inventores han descubierto que mediante la utilización de una pauta de administración concomitante (como se ha definido anteriormente) de un kit, una vacuna en un primer envase que comprende DT (y/o CRM197) está ventajosamente presente en una elevada cantidad (40-150 µg, preferiblemente 60-120 µg, más preferiblemente 70-100 µg, más preferiblemente alrededor de 95 µg) donde una vacuna en un segundo (y opcionalmente tercer) envase que comprende un polisacárido conjugado con DT o CRM197 se administra concomitantemente.

35 Las ventajas son que a) aunque el contenido de DT es elevado en el primer envase, no es lo suficientemente elevado como para inducir los efectos de interferencia inmunitaria o supresión de la proteína transportadora de DT, b) el conjugado con polisacárido de DT o CRM-197 está separado del primer envase de modo que la reactogenicidad de la vacuna del primer envase no está aumentada, incluso c) el título de anticuerpos contra el polisacárido conjugado con DT o CRM197 no está reducido y puede aumentarse (títulos más altos comparado con el caso cuando el conjugado se administra por separado o comparado con el caso cuando en el primer envase existen cantidades menores de DT).

40 Por consiguiente, en la presente invención se divulga un kit que comprende dos (o tres) envases que comprenden dos (o tres) composiciones inmunogénicas para la administración concomitante (como se ha definido anteriormente), en donde el primer envase comprende un contenido de DT (DT más CRM197, preferiblemente libre o sin conjugar) que está presente en una cantidad elevada (como se ha definido anteriormente) y el segundo (y tercer) envases comprende uno o más polisacáridos conjugados con DT y/o CRM197.

45 Preferiblemente el primer envase debería incluir DT libre (no conjugada), más preferiblemente en el contexto de una vacuna multivalente DTPa o DTPw.

50 El polisacárido(s) conjugado con DT/CRM197 puede ser cualquiera de los descritos en esta solicitud, preferiblemente uno o más de la siguiente lista: polisacáridos neumocócicos 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F o 33F, MenC, MenY o Hib. Preferiblemente la respuesta inmunitaria (títulos de anticuerpos) contra uno o más de estos polisacáridos se mantiene en comparación con la administración del conjugado en sí y más preferiblemente está reforzado.

Preferiblemente el kit es cualquiera de los descritos anteriormente.

55 Preferiblemente uno, dos, tres o todos los conjugados polisacárido-DT (o CRM197) presentes en el kit están presentes de tal forma, que la relación polisacárido:DT/CRM197 está reducida (comparado con conjugados estándar) hasta 1:0,5-1,5 en peso (preferiblemente 1:0,6-1,2, más preferiblemente alrededor de 1:1).

5 Se divulga además un procedimiento de inmunización de un hospedador humano utilizando el kit anterior, procedimiento que comprende la administración de una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica del primer envase al hospedador en un primer sitio, la administración de una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica del segundo envase al hospedador en un segundo sitio (y opcionalmente la administración de una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica del tercer envase al hospedador en un tercer sitio), en donde el primer y segundo (y tercer) sitios están drenados por diferentes ganglios linfáticos.

10 La administración concomitante debe llevarse a cabo como se ha descrito anteriormente. Preferiblemente el primer y segundo (y tercer) sitios representan diferentes miembros del hospedador. Preferiblemente la administración de las composiciones inmunogénicas del primer y segundo (y tercer) envases se produce el mismo día. Preferiblemente el hospedador se vacuna posteriormente de la misma manera una o más veces, cada vez con intervalos de 2-12 semanas, más preferiblemente dos veces más, cada vez con un intervalo de aproximadamente un período de 1-2 meses.

15 Las preparaciones de vacuna de la presente invención se pueden usar para proteger o tratar un mamífero susceptible de infección, mediante la administración de dicha vacuna a través de la vía sistémica o mucosal. Estas administraciones pueden incluir la inyección por vía intramuscular, intraperitoneal, intradérmica o subcutánea o mediante la administración mucosal en el tracto oral/alimentario, respiratorio (por ej., intranasal) y genitourinario.

20 La cantidad de antígeno en cada dosis de vacuna se selecciona como una cantidad que incluye una respuesta inmunoprotectora sin los efectos adversos significativos de las vacunas típicas. Dicha cantidad variará dependiendo del inmunógeno específico empleado y su presentación. Generalmente, se espera que cada dosis comprenda 0,1-100 µg de polisacárido, preferiblemente 0,1-50 µg, preferiblemente 0,1-10 µg, de los cuales de 1 a 5 µg es el intervalo más preferible.

El contenido de los antígenos proteicos de la vacuna estará generalmente en el intervalo de 1-100 µg, preferiblemente 5-50 µg, más generalmente en el intervalo de 5-25 µg.

25 Tras una vacunación inicial, los sujetos pueden recibir una o varias inmunizaciones de refuerzo adecuadamente espaciadas.

La preparación de la vacuna generalmente se describe en Vaccine Design ("The subunit and adjuvant approach" (eds Powell M.F. & Newman M.J.) (1995) Plenum Press New York). La encapsulación en liposomas se describe en Fullerton, patente US-4.235.877.

Ejemplos

30 Los ejemplos se proporcionan sólo con fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la invención.

Ejemplo 1: Preparación de una vacuna DT-TT-Pa-IPV-HepB (DTPaIPVHepB)

Esta se preparó como se describe en el documento WO 93/24148. La vacuna está comercializada con el nombre Infanrix- PeNTa™ (SmithKline Beecham Biologicals).

Ejemplo 2: Preparación de una vacuna MenC o MenC-MenY

35 MenC: Polisacárido capsular de *N. meningitidis* tipo C conjugado con proteína D o TT (utilizando la técnica CDAP) presente en una cantidad de 5 µg de polisacárido en el conjugado por 0,5 ml de dosis humana. El pH se ajustó hasta 6,1 y se liofilizó en presencia de sacarosa.

40 MenCMenY: El polisacárido capsular de *N. meningitidis* tipo C conjugado con proteína D o TT (utilizando la técnica CDAP) y el polisacárido capsular de *N. meningitidis* tipo Y conjugado con una de proteína D o TT se mezclaron juntos en una cantidad de 5 µg de polisacárido en cada conjugado por 0,5 ml de dosis humana. El pH se ajustó hasta 6,1 y se liofilizó en presencia de sacarosa.

Ejemplo 3: Preparación de una vacuna DT-TT-Pa-IPV-HepB-MenC-MenY (DTPaIPVHepB/MenCMenY) o una vacuna DT-TT-Pa-IPV- HepB-MenC (DTPaIPVHepB/MenC)

Las vacunas del ejemplo 1 y del ejemplo 2 se mezclaron extemporáneamente (el mismo día) antes de su uso.

45 Ejemplo 4: Preparación de una vacuna Hib – conjugado neumocócico 11 valente (Hib/Strep11V)

El polisacárido capsular de *H. influenzae* tipo b conjugado con TT (10 µg de polisacárido en el conjugado por dosis), el cual ha sido liofilizado a un pH de 6,1 en presencia de lactosa [Hiberix™ (SmithKline Beecham Biologicals)] se disolvió extemporáneamente (el mismo día del uso) en una solución líquida de polisacárido capsular neumocócico 11 valente (serotipos 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F) conjugado con PD (1 µg de polisacárido en cada conjugado por dosis). La vacuna neumocócica se había adsorbido previamente en 0,5 mg de AP+ (como AlPO4).

Ejemplo 5: Ensayos clínicos

Estudios de la vacuna del ejemplo 4

La vacuna del ejemplo 4 y una vacuna control se administraron en una pauta de tres dosis (3, 4, 5 meses de edad) a lactantes alemanes.

- 5 Los resultados de la respuesta inmunitaria (medida 1 mes después de la última administración primaria) fueron los siguientes.

Anticuerpos anti-IgG neumocócicos: GMC (µg/ml) (mediante Elisa)

PS		Grupo A			Grupo D		
Anticuerpo	Momento	N	S+[%]	GMC	N	S+[%]	GMC
Anti-1	PIII	30	100	1,23	33	100	0,99
Anti-3	PIII	30	100	2,04	33	97,0	1,20
Anti-4	PIII	30	100	0,98	33	100	1,03
Anti-5	PIII	30	100	1,33	33	100	1,34
Anti-6B	PIII	30	100	0,54	33	100	0,62
Anti-7F	PIII	30	100	1,60	33	100	1,33
Anti-9V	PIII	30	100	1,61	33	100	1,21
Anti-14	PIII	30	100	2,27	33	100	2,32
Anti-18C	PIII	30	100	1,06	33	100	1,04
Anti-19F	PIII	30	100	2,05	33	100	1,92
Anti-23F	PIII	30	96,7	0,75	33	100	0,76

Grupo A= 11 Pn-PD + Infanrix-HeXa™ (Infanrix-Penta más conjugado con Hib añadido - DTPa-HB-IPV-Hib)
 Grupo D = 11Pn-PD/Hib + Infanrix-PeNTa™ (DTPa-HB-IPV)
 + indica concomitante (en miembros diferentes) en lugar de la administración combinada.

Porcentaje de sujetos con concentraciones de anticuerpos no inferiores a 0,5 µg/ml

grupo	PS 1	3	4	5	6B	7F	7V	14	18C	19F	23F
D	84,8	87,9	87,9	90,9	51,5	90,9	93,9	97,0	81,8	97,0	72,7
A	86,7	96,7	76,7	90,0	50,0	93,3	90,0	90,0	80,0	96,7	66,7

Anticuerpos anti-PRP: GMC (µg/ml) (mediante Elisa)

		Grupo D (N = 34)	
		n	≥ 1 µg/ml [%] GMC [µg/ml]
Anti-PRP	PIII	33	100 10,75

El 100% de los sujetos tenían una concentración de anticuerpos anti-PRP (polisacárido Hib) no inferior a 1,0 µg/ml

- 10 Hiberix (conjugado Hib-TT no adsorbido) tiene una GMC tras una pauta de administración similar de aproximadamente 6 µg/ml.

La respuesta inmunitaria, en términos de anticuerpos ELISA, de lactantes que recibieron la vacuna 11 Pn-PD/Hib era similar a la observada en aquellos que recibieron la vacuna 11Pn-PD para todos los serotipos, salvo los serotipos 1, 3 y 9V para los cuales se observó una tendencia hacia una media geométrica de las concentraciones inferior para la vacuna 11 Pn-PD/Hib. Sin embargo, estas diferencias no fueron significativas como se muestra por el solapamiento de los intervalos de confianza del 95%.

- 15

La vacuna 11 Pn-PD/Hib inducía anticuerpos funcionales (opsonofagocíticos) contra los 11 serotipos.

La combinación de la vacuna Hib con la vacuna conjugada neumocócica no interfería significativamente con la respuesta inmunitaria neumocócica y sorprendentemente reforzaba la respuesta anti-PRP comparado con las vacunas registradas Infanrix-HeXa y Hiberix.

- 5 *Estudios en las vacunas del ejemplo 3 o la administración concomitante de las vacunas del ejemplo 3 y del ejemplo 4*

Estudio 1:

- 10 Se puede evaluar la seguridad y la inmunogenicidad de Infanrix-PeNTa mezclada con la vacuna conjugada MenC administrada con una vacuna Hib o concomitantemente con una vacuna neumocócica 11 valente mezclada con Hiberix. Ambos transportadores PD y TT se pueden evaluar para el conjugado MenC. Las vacunas se pueden administrar como una vacuna de tres dosis en lactantes. La inyección concomitante puede ser en diferentes miembros, administrada en la misma visita al médico.

Estudio 2:

- 15 Se puede evaluar la seguridad y la inmunogenicidad de Infanrix-PeNTa mezclada con la vacuna conjugada MenC-MenY administrada con una vacuna Hib o concomitantemente con una vacuna neumocócica 11 valente mezclada con Hiberix. Ambos transportadores PD y TT se pueden evaluar para los conjugados MenC y MenY. Las vacunas se pueden administrar como una vacuna de tres dosis en lactantes. La inyección concomitante puede ser en diferentes miembros, administrada en la misma visita al médico.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición inmunogénica multivalente adecuada para conferir protección a un hospedador contra la enfermedad causada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, poliovirus y *N. meningitidis* que comprende:
- 10 (a) componentes acelulares de pertussis que comprenden toxina pertussis y FHA,
 (b) toxina tetánica,
 (c) toxina de la difteria,
 (d) antígeno de superficie del virus de la hepatitis B,
 (e) poliovirus inactivado y
 (f) uno o ambos conjugados de una proteína transportadora y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo de *N. meningitidis* tipo Y y *N. meningitidis* tipo C.
- 15 2. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, que comprende además uno o más conjugados de una proteína transportadora y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *H. influenzae* tipo b, *N. meningitidis* tipo A y *N. meningitidis* tipo W.
3. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 ó 2, que comprende además el virus de la hepatitis A muerto atenuado.
- 20 4. La composición inmunogénica de las reivindicaciones 1-3, en la que la proteína(s) transportadora utilizada está seleccionada del grupo que comprende: toxina tetánica, toxina de la difteria, CRM197, toxina de la difteria recombinante, OMPC de *N. meningitidis*, neumolisina de *S. pneumoniae* y proteína D de *H. influenzae*.
5. La composición inmunogénica de las reivindicaciones 1-4, que comprende además un adyuvante.
6. La composición inmunogénica de la reivindicación 5, en la que el adyuvante son sales de aluminio.
7. La composición inmunogénica de las reivindicaciones 1-6, en la que el componente acelular de pertussis comprende además pertactina adsorbida en hidróxido de aluminio.
- 25 8. El uso de la composición inmunogénica de las reivindicaciones 1-7 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad causada por la infección por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, poliovirus y *N. meningitidis*.
9. Un procedimiento para la preparación de la composición inmunogénica multivalente de las reivindicaciones 1-7 que comprende la etapa de mezclar entre sí los componentes individuales.
- 30 10. La composición inmunogénica de las reivindicaciones 1-7, para su uso en el tratamiento o prevención de la enfermedad causada por la infección por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, poliovirus y *N. meningitidis*.