

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 391 599**

(51) Int. Cl.:

**A61K 39/145**

(2006.01)

**A61K 9/127**

(2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **08760823 .8**

(96) Fecha de presentación: **11.06.2008**

(97) Número de publicación de la solicitud: **2175881**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **21.04.2010**

(54)

Título: **Vacuna intradérmica contra la gripe**

(30)

Prioridad:

14.06.2007 EP 07110284

14.06.2007 US 943967 P

21.12.2007 US 8688 P

(73)

Titular/es:

**CRUCELL SWITZERLAND AG (100.0%)**

**REHHAGSTRASSE 79**

**3018 BERN, CH**

(45)

Fecha de publicación de la mención BOPI:

**28.11.2012**

(72)

Inventor/es:

**HERZOG, CHRISTIAN y  
LAZAR, HEDVIKA**

(45)

Fecha de la publicación del folleto de la patente:

**28.11.2012**

(74)

Agente/Representante:

**PÉREZ BARQUÍN, Eliana**

**ES 2 391 599 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**

Vacuna intradérmica contra la gripe

**5 Campo de la invención**

La invención se refiere al campo de la medicina y en particular al campo de las enfermedades infecciosas. Más en particular, la invención se refiere a vacunas que comprenden virosomas en la fabricación de medicamentos para el tratamiento profiláctico de la infección de la gripe.

**10 Antecedentes de la invención**

Los virus de la gripe, miembros de la familia de Orthomyxoviridae, son los agentes causantes de epidemias anuales de enfermedad respiratoria aguda. Las epidemias y pandemias de gripe se siguen cobrando vidas humanas y producen impacto en la economía global. Solamente en EE.UU. 50 millones de personas padecen gripe cada año. Se calcula que los fallecimientos anuales en todo el mundo (1972-1992) son 60.000 (estadísticas de CDC). Además de las epidemias estacionales, ha habido tres casos importantes de estallidos de pandemia de gripe durante el pasado siglo. El ejemplo clásico de pandemia de gripe grave fue la "gripe española" en 1918-1919 que mató a una población que se calculó de 40 a 50 millones de personas en todo el globo. Otras pandemias ocurrieron en 1957 (gripe asiática, que se calculó de un millón de fallecimientos), y en 1968 (gripe de Hong-Kong, que se calculó de 700.000 fallecimientos). Se ha encontrado ahora que se pueden introducir en la población humana virus (letrales) de gripe aviar y ha llegado a quedar claro que en ciertos casos era efectivamente posible la transmisión de un ser humano a otro ser humano de dichos virus aviares o sus componentes letales.

**25** Las infecciones con virus de la gripe se asocian con un amplio espectro de dolencias y complicaciones que dan como resultado morbilidad y mortalidad sustanciales en todo el mundo, especialmente en personas mayores y pacientes con dolencias crónicas. La vacunación contra la gripe es lo más eficaz para prevenir las complicaciones, a menudo fatales, asociadas con esta infección, y se ha hecho gran esfuerzo para el desarrollo de vacunas contra la gripe.

**30** Actualmente, se usan tres tipos de vacuna de la gripe inactivada: virus completo, producto fraccionado y antígeno de superficie o vacunas con subunidades. Todas las vacunas estacionales contienen las glicoproteínas de superficie, proteínas hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA), de las cepas de los virus de la gripe que se espera que van a estar en circulación en la población humana en el año siguiente. Las cepas que suministran las proteínas HA y NA incorporadas en la vacuna, se hacen crecer en huevos de gallina con embriones, y las partículas víricas se purifican subsiguentemente antes del procesamiento posterior.

**35** La necesidad del ajuste anual de las vacunas contra la gripe se debe a la variación del antígeno causada por los procesos que se conocen como "deriva antigenética" o "giro antigenético". La deriva antigenética se produce por acumulación de una serie de mutaciones puntuales tanto en la proteína HA como en la NA de un virus que da como resultado sustituciones de aminoácidos. Estas sustituciones impiden la unión anticuerpos neutralizantes, inducidos por infección previa, y la nueva variante puede infectar al hospedador. El giro antigenético es la aparición de nuevos subtipos por reagrupamiento genético entre virus de la gripe A animales (a menudo aviares) y humanos. Las cepas de pandemias de 1957 (H2N2) y 1968 (H3N2) son ejemplos de virus reagrupados mediante los cuales se introdujeron genes que codificaban HA y/o NA aviares en virus que estaban en circulación en seres humanos, los cuales se pudieron extender subsiguentemente entre la población humana.

**40** Sobre la base de exploraciones epidemiológicas sobre cientos de Centros Nacionales de la Gripe en todo el mundo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda anualmente la composición de la vacuna contra la gripe, habitualmente en febrero para el hemisferio norte, y en septiembre para el hemisferio sur. Esta práctica limita la ventana de tiempo para la producción y estandarización de la vacuna a un máximo de nueve meses.

**45** En caso de demanda urgente de muchas dosis de vacuna, por ejemplo cuando surge un nuevo subtipo de virus de la gripe A por giro antigenético y deriva antigenética, y es necesaria una provisión elevada de vacunas, la disponibilidad limitada de huevos puede dificultar la producción rápida de vacunas. Inconvenientes adicionales de este sistema de producción son la falta de flexibilidad, el riesgo de presencia de toxinas y los riesgos de virus adventicios, particularmente retrovirus, y problemas de esterilidad. Algunas cepas crecen en los huevos más rápidamente que otras, lo que puede dificultar la rapidez con la que se suministran finalmente dichas vacunas. Con todo ello, estos inconvenientes presentan un problema grave en la práctica actual de la producción de la vacuna contra la gripe que usa dichos huevos de gallina con embriones. El uso de un sistema de cultivo celular para la producción de vacuna contra la gripe para epidemias y pandemias es por tanto una alternativa de producción atractiva y fiable. El uso de líneas celulares de adenovirus-E1 transformadas e inmortalizadas para producción de virus de la gripe se describe en el documento WO 01/38362.

**50** La vacuna anual contra la gripe contiene típicamente antígenos de dos cepas de virus de la gripe A y de una cepa de gripe B. Una dosis estándar inyectable de 0,5 ml generalmente contiene 15 µg de componente de antígeno de

hemaglutinina (HA) de cada cepa, que suman hasta 45 µg de HA en total, según se miden por análisis único de inmunodifusión radial.

Debido al aumento de la población mundial, las economías crecientes y emergentes, la intensificación de los viajes internacionales, la creciente extensión de las epidemias anuales de gripe, la amenaza de pandemias mundiales de gripe, y las limitaciones de las instalaciones disponibles de producción en el mundo, es deseable conseguir respuestas inmunitarias protectoras en los seres humanos con vacunas que tengan propiedades mejoradas en comparación con el estándar que se usa en el presente; también es deseable usar vacunas con dosis más bajas (para ahorro de dosis), al tiempo que se obtiene un nivel similar de inmunidad protectora. Sin embargo, cuando se consideran dosis más bajas, se pueden considerar agentes estimuladores de inmunidad tales como los adyuvantes a base de aluminio. Sin embargo, la aplicación de aluminio en vacunas contra la gripe generalmente no se hace debido a los efectos laterales adversos tales como el dolor en el sitio de inyección.

#### **Breve descripción de las figuras**

La figura 1 muestra (A) la tasa (%) de seroconversión (SC), (B) el aumento de multiplicador-GMT (estándar >2,5 veces), y (C) la tasa (>70 %) de seroprotección (SP) en los vacunados entre 18 y 60 años de edad, después de suministro intramuscular (IM) o suministro intradérmico (ID), para la cepa A/Nueva Caledonia (barras de la izquierda), la cepa A/Hiroshima (barras del medio) y la cepa B/Malaysia (barras de la derecha).

La figura 2 muestra (A) la tasa (%) de seroconversión, (B) el aumento de multiplicador-GMT (estándar >2,5 veces), y (C) la tasa (>70 %) de seroprotección en vacunados mayores de 60 años de edad, después de suministro intramuscular (IM) para la cepa A/Nueva Caledonia (barras de la izquierda), la cepa A/Hiroshima (barras del medio) y la cepa B/Malaysia (barras de la derecha).

La figura 3 muestra que la mayoría de los estándares de EMEA se cumplieron, en la que a + (más) indica cumplimiento del estándar, y a- (menos) indica que no se cumplió el estándar.

La figura 4 muestra las tasas de seroconversión y seroprotección en un estudio que implica la administración de 3, 4,5 y 6 µg de antígeno de HA de tres cepas de gripe en una dosis intradérmica única, comparadas con una dosis alta (15 µg de HA de cada cepa) que se administra intramuscularmente y comparadas con una dosis baja (3 µg de HA de cada cepa) que se administra por vía intradérmica con un dispositivo de NanoPass (generalmente denominado dispositivo MicronJet). El estudio fue una prueba clínica de Fase II que implicaba a 56 individuos humanos en cada grupo de estudio, y la aplicación de la vacuna contra la gripe Inflexal® de la campaña de la gripe 2007/2008.

La figura 5 muestra las tasas GMT previas y posteriores a la vacunación en los grupos que recibieron 3, 4,5 y 6 µg de HA de cada cepa.

La figura 6 muestra la seroconversión, seroprotección y aumento de multiplicador-GMT en los grupos que recibieron 3, 4,5 y 6 µg de HA de cada cepa, por vía intradérmica usando la aguja hipodérmica única.

La figura 7 muestra la seroconversión, seroprotección y aumento de multiplicador-GMT en los grupos que recibieron 15 µg de HA de cada cepa intramuscularmente, y 3 µg de HA de cada cepa por vía intradérmica usando la aguja hipodérmica única.

La figura 8 muestra la seroconversión, seroprotección y aumento de multiplicador-GMT en los grupos que recibieron 15 µg de HA de cada cepa intramuscularmente, y 3 µg de HA de cada cepa por vía intradérmica usando el dispositivo NanoPass MicronJet (microaguja múltiple).

La figura 9 muestra las tasas GMT previas y posteriores a la vacunación en los grupos que recibieron 3 µg de HA de cada cepa, tanto mediante la aguja hipodérmica única como usando el dispositivo NanoPass MicronJet (microaguja múltiple). Cada barra de la izquierda representa la cepa A/Islas Salomón, las barras del medio representan la cepa A/Wisconsin y las barras de la derecha representan la cepa B/Malaysia.

La figura 10 muestra la seroconversión, seroprotección y aumento de multiplicador-GMT en los grupos que recibieron 3 µg de HA de cada cepa por vía intradérmica usando la aguja hipodérmica única, y 3 µg de HA de cada cepa por vía intradérmica usando el dispositivo NanoPass MicronJet (microaguja múltiple).

#### **60 Sumario de la invención**

La presente invención se refiere a una preparación virosómica que comprende antígeno de hemaglutinina (HA) de la gripe para uso como vacuna intradérmica de gripe en sujetos humanos. La técnica ha descrito que preparaciones virosómicas que comprenden antígeno HA de la gripe no proporcionaron niveles suficientes de seroconversión, seroprotección y aumento de multiplicador-GMT en animales (cerdos). Los inventores de la presente invención

muestran ahora que se cumplieron los estándar internacionales cuando se administraron estas vacunas a seres humanos.

- 5 La invención se refiere además a un uso de una preparación virosómica que comprende antígeno de HA de la gripe en la fabricación de una vacuna contra la gripe para administración intradérmica en sujetos humanos, en la que se prefiere que la preparación sea una composición de vacuna Inflexal® V. Se prefiere todavía más fabricar vacunas de este tipo en volúmenes pequeños, preferiblemente en un volumen de dosis única de aproximadamente 0,1 ml. La invención también se refiere a un kit que comprende una preparación según la invención y un dispositivo de suministro adecuado para suministro intradérmico de vacunas, preferiblemente un dispositivo de suministro intradérmico multicanal tal como un dispositivo MicronJet según desarrollado por NanoPass.
- 10

#### **Descripción detallada de la invención**

15 Una opción para mejorar las vacunas en general es mediante adición de adyuvantes, o agentes potenciadores de inmunidad. Hoy en día existe una amplia diversidad de adyuvantes. Ejemplos típicos son los adyuvantes a base de aluminio, tales como hidróxido de aluminio o fosfato de aluminio. Otros ejemplos son emulsiones de agua en aceite, saponinas (que pueden estar en forma de un ISCOM), y toxinas derivadas de agentes patógenos, tales como el toxoide de tétanos.

20 Otra manera de estimular respuestas inmunitarias hacia un antígeno de la gripe es mediante generación de virosomas de la gripe reconstituidos que esencialmente son envueltas de virus funcionales reconstituidas que contienen el antígeno de hemaglutinina incorporado en la envuelta, pero sin que tengan el antecedente genético del propio virus de la gripe (Glück 1992; Huckriede y col., 2005). Dichos virosomas de la gripe han sido aprobados para vacunación contra la gripe para que se usen en las epidemias de gripe que se producen anualmente, y se ponen en 25 el mercado por Berna Biotech AG bajo la marca registrada Inflexal® V.

30 Las vacunas contra la gripe que contienen virosomas según se han descrito anteriormente contienen típicamente 15 µg de HA de cada cepa recomendada por la OMS para el programa de vacunación anual: dos cepas de gripe A y una cepa de gripe B. Estas vacunas se administran por vía intramuscular, generalmente usando una aguja de inyección.

35 Además de los problemas que se refieren a proporcionar suficientes vacunas para satisfacer la demanda anual de vacunas contra la gripe (ahorro de dosis), también hay problemas para administrar estas vacunas puesto que se necesita inyectarlas con agujas largas: muchos individuos tienen temor a las agujas de este tipo y preferirían otros métodos de administración.

40 La administración intradérmica es una manera de administrar vacunas esquivando el uso de agujas largas y se pueden administrar las vacunas con dispositivos que son fiables y fáciles de usar. Más aún, la piel es un excelente órgano inmunitario, porque hay en ella una alta densidad de células de Langerhans, que son células dendríticas especializadas. Generalmente, se acepta que la administración intradérmica de vacunas proporciona captación de antígeno más eficaz. Ha habido informes sobre la administración intradérmica de vacunas contra la gripe en la técnica ((Belshe y col., 2004; Kenney y col., 2004) que mostraron resultados prometedores con dosificaciones más bajas (3 a 6 µg de HA de una cepa única). Belshe y col., (2004) mostraron que se alcanzaba 100 % de seroconversión usando 6 µg de HA en una administración intradérmica en 119 sujetos, mientras que Kenney y col., 45 (2004) mostraron que las tasas de seroconversión y seroprotección eran similares cuando se comparaba la administración intramuscular de 15 µg de HA con la administración de 3 µg de HA que se daban por vía intradérmica a 50 sujetos.

50 Aunque las aplicaciones intradérmicas de vacunas de virus fraccionados o vacunas de antígeno purificadas pueden ser aplicables, el volumen, y la dosis de antígeno generalmente son más bajas en comparación con las de composiciones de vacunas aplicadas por vía intramuscular, y aunque se han realizado y se han descrito dichos estudios, no hay actualmente vacunas intradérmicas contra la gripe disponibles comercialmente. Para que cumplan los estándar y para que sean tan eficaces como la vacuna intramuscular, será deseable estimular la respuesta inmunitaria de dichas composiciones (cuando se aplican por vía intradérmica) mediante adyuvantes. Sin embargo, 55 los adyuvantes a base de aluminio típicamente dan como resultado efectos laterales negativos que los hacen inadecuados para administración intradérmica. Otra manera de estimular la respuesta inmunitaria es usando virosomas estimuladores de inmunidad de la gripe reconstituidos que contienen el antígeno de HA, en los que el antígeno se suministra directamente a la célula que presenta antígeno por un proceso de fusión de la membrana virosómica y la membrana celular. Las composiciones de virosoma de este tipo son muy conocidas en la técnica (véanse, por ejemplo, Huang y col., 1979; Kawasaki y col., 1983; Hosaka y col., 1983) pero se han descrito para uso 60 en otros tipos de vacunas en el documento WO 92/19267.

65 Se han usado virosomas de la gripe para administración intradérmica y dichos métodos se describieron en el documento WO 2004/016281. Los ejemplos y dibujos en el documento WO 2004/016281 describen que una vacuna contra la gripe de base virosómica (Inflexal® V) en combinación con diferentes concentraciones de una toxina de ADP ribosilante (enterotoxina LT lábil al calor de *E. coli*) cumple uno de los criterios establecidos por la EMEA (al

menos 40 % de tasa de seroconversión = porcentaje de vacunados que tienen al menos un aumento de multiplicador cuatro en los títulos de hemaglutinina (HI) de suero después de la vacunación) para cada cepa de vacuna, véanse FIGS. 1 a 3 en este documento. Sin embargo, no se obtuvieron resultados positivos cuando se omitió el adyuvante (la toxina de ADP-ribosilante), y solamente se usaron 3 µg de HA de cada cepa. Las tasas de seroconversión no alcanzaron 40 % en ninguno de los casos en que se administraron por vía intradérmica los virosomas sin LT. La manera ordinaria de administración, por vía intramuscular, dio como resultado suficiente seroconversión. Por lo tanto, la conclusión de WO 2004/016281 sería que la administración intradérmica de vacunas contra la gripe a base de virosomas no se debería usar para obtener una protección suficiente.

- 5            10 Los inventores de la presente invención han encontrado ahora que vacunas contra la gripe a base de virosomas, tales como las que se ponen en el mercado bajo la marca Inflexal® V, se pueden administrar por vía intradérmica (en lugar de ser inyectadas intramuscularmente) y dan como resultado que se alcanzan los estándar que se han establecido por las autoridades, cuando se usan en seres humanos. La aplicación intradérmica según la presente invención se realiza con una dosis (y volumen) inferior a los 15 µg de HA de cada cepa que se requieren generalmente, mientras se mantiene el que se induzca la inmunidad protectora según se requiere por el criterio general establecido para las vacunas de este tipo (tales como los establecidos por la EMEA). La bajada de la dosis proporciona una solución a los problemas con las capacidades mundiales de producción, y a la demanda creciente de vacunas contra la gripe. La administración intradérmica también proporciona una solución a las engorrosas inyecciones intramusculares con agujas a las que tiene temor mucha gente. Más aún, usando una vacuna a base de virosoma, es de esperar una tasa más baja de acontecimientos adversos debido a la alta pureza de las vacunas contra la gripe con adyuvantes virosómicos.

15            20            25 Claramente, el hecho de que los inventores de la presente invención hayan encontrado ahora que las vacunas con dosis rebajadas y en forma de virosoma, proporcionan protección suficiente cuando se aplican por vía intradérmica fue muy inesperado a la vista del documento WO 2004/016281. La diferencia se puede explicar por el hecho de que los experimentos en WO 2004/016281 se realizaron en animales, en cerdos para ser precisos, no en seres humanos. Los inventores de la presente invención han encontrado ahora que la administración intradérmica de vacunas contra la gripe a base de virosoma proporciona tasas suficientes de seroconversión y seroprotección cuando se administran dosis bajas de antígeno de HA a sujetos humanos.

30            35 La presente invención se refiere a una composición que comprende aproximadamente 3 µg de antígeno de HA de una cepa única de virus de la gripe, en la que la composición puede comprender adicionalmente antígenos de HA de cepas múltiples de virus de la gripe, preferiblemente cepas de tipo A así como de tipo B, para uso en terapia o profilaxis humana. Se ha de entender que la composición puede comprender antígenos de HA de cepas múltiples de gripe en la que la cantidad de antígeno de HA es preferiblemente de aproximadamente 3 µµg por cepa.

40            45            50 "Suministro intradérmico" o "administración intradérmica" según se usa en este documento significa suministro de la vacuna contra la gripe a las regiones de la dermis de la piel, aunque no necesariamente se situará exclusivamente en la dermis, que es la capa de la piel situada aproximadamente entre 1,0 y aproximadamente 2,0 mm de la superficie en la piel humana. Puede haber cierta magnitud de variación entre individuos y en diferentes partes del cuerpo. Generalmente, la dermis se alcanza al ir aproximadamente a 1,5 mm por debajo de la superficie de la piel, entre el estrato córneo y la epidermis en la superficie y la capa subcutánea por debajo respectivamente. Despues de la administración, la vacuna se puede situar exclusivamente en la dermis o puede estar presente también en la epidermis.

55            60            65 Dispositivos adecuados para uso con las vacunas intradérmicas incluyen aplicadores tales como los que se ponen en el mercado por NanoPass Technologies Ltd. y los que se describen en los documentos US 4886499, US 5190521, US 5328483, US 5527288, US 4270537, US 5015235, US 5141496, US 5417662, WO 99/34850, EP 1092444, US 5480381, US 5599302, US 5334144, US 5993412, US, 5649912, US 5569189, US 5704911, US 5383851, US 5893397, US 5466220, US 5339163, US 5312335, US 5503627, US 5064413, US 5520639, US 4596556, US 4790824, US 4941880, US 4940460, US 6494865, US 6569123, US 6569143, US 6689118, US 6776776, US 6808506, US 6843781, US 6986760, US 7083592, US 7083599, WO 2004/069302, WO 2004/098676, WO 2004/110535, WO 2005/018703, WO 2005/018704, WO 2005/018705, WO 2005/086773, WO 2005/115360, WO 02/02178, WO 02/02179, WO 02/083205, WO 02/083232, WO 03/066126, WO 03/094995, WO 2004/032990, WO 2004/069301, WO 97/37705, y WO 97/13537.

65            70            75            80 Cualquier dispositivo de suministro intradérmico que se encuentre adecuado por una persona experta para suministro de vacunas contra la gripe se puede usar según la presente invención, y puede formar parte de un kit según la presente invención. Se prefieren dispositivos tales como los desarrollados por NanoPass y que se denominan generalmente dispositivos MicronJet que comprenden canales de suministro múltiple, que también se denominan microagujas o MicroPyramids. El dispositivo MicronJet usado aquí (en el Ejemplo 2 a continuación) contenía cuatro agujas separadas, pero los dispositivos MicronJet pueden contener otro número de microagujas separadas, tales como al menos dos y hasta un número que todavía permita el flujo de la composición que se necesita suministrar a la piel humana.

Para medir la eficacia de las vacunas contra la gripe se aplican estándar internacionalmente. Los criterios de EMEA para una vacuna eficaz contra la gripe son:

- 5      Tasa de seroconversión:  
  - >40 % (18 a 60 años)
  - >30 % (>60 años)
- 10     Factor de conversión:  
  - >2,5 (18 a 60 años)
  - 15     2,0 (>60 años)
- 15     Tasa de protección:  
  - >70 % (18 a 60 años)
  - 20     >60 % (>60 años)
- 25     La seroconversión se define como el porcentaje de vacunados que tienen al menos un aumento de multiplicador cuatro en los títulos de inhibición de hemaglutinina (HI) de suero después de la vacunación, para cada cepa de vacuna. El factor de conversión se define como el aumento de multiplicador en la media geométrica de los títulos de HI de suero (GMT) después de la vacunación para cada cepa de vacuna. La tasa de protección se define como el porcentaje de vacunas con un título de HI de suero igual o mayor que 1:40 después de la vacunación (para cada cepa de vacuna) y se acepta normalmente que indica protección.
- 30     Teóricamente, para cumplir los requisitos europeos, una vacuna contra la gripe tiene que cumplir solamente uno de los criterios anteriormente indicados, para todas las cepas de la gripe que se incluyen en la vacuna. Sin embargo, en la práctica, se necesitará que se cumplan al menos dos para todas las cepas y puede ser suficiente. Algunas cepas son más inmunógenas que otras y puede que no alcancen los estándar, incluso cuando se administran intramuscularmente. A menudo, cuando los estándar se cumplen para individuos sanos entre 18 y 60 años, puede que no se cumplan los estándar en las personas mayores (>60 años).
- 35     La presente invención se refiere al uso de una preparación de vacuna contra la gripe de base virosómica en la fabricación de una vacuna contra la gripe para administración intradérmica en seres humanos. Más aún, cuando la vacuna se suministra por vía intradérmica se administra un volumen más bajo.
- 40     En ciertas realizaciones, la cantidad de antígeno en la composición según la invención está entre 1 y 10 µg de HA de cada cepas de gripe en una dosis de vacuna única, por ejemplo entre 2 y 10 µg, por ejemplo aproximadamente 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 µg de HA de cada cepas de gripe en una dosis de vacuna única. La cantidad de antígeno en la composición según la presente invención es preferiblemente aproximadamente 3 µg de HA de cada cepas de gripe en una dosis de vacuna única; y esto requiere administración solamente de 20 % de la dosis intramuscular típica (0,1 ml en lugar de 0,5 ml).
- 45     La presente invención se refiere a una preparación virosómica que comprende antígeno de hemaglutinina (HA) de gripe, para uso como vacuna intradérmica contra la gripe en sujetos humanos. Preferiblemente, la preparación no comprende antígenos de virus distintos de los virus de la gripe. Durante décadas, se han elaborado virosomas que comprendían antígenos de HA y los métodos para producir tales virosomas son muy conocidos por las personas expertas en la técnica. Preparaciones virosómicas que comprende antígenos de HA de virus de la gripe también se han aplicado para otros tratamientos profilácticos tales como los que se fabrican para vacunas de hepatitis B (Epaxal®). Sin embargo, en una realización preferida, cuando el sujeto humano que se trata ha de vacunarse para prevenir infecciones de gripe, la preparación no comprende antígenos de otros agentes patógenos tales como virus del tipo del virus de la hepatitis A. La preparación virosómica que comprende antígenos de HA de virus de la gripe se puede usar cuando ocurre una pandemia. En este caso, se usa antígeno de HA de una cepas de gripe única para que sea parte de la preparación virosómica. Sin embargo, cuando se está produciendo una vacuna estacional, las vacunas de este tipo son típicamente trivalentes en el sentido de que está presente HA de tres cepas de gripe diferentes, generalmente dos cepas A y una cepa B. Para el tratamiento de sujetos humanos durante una campaña de gripe estacional, se prefiere que la preparación según la presente invención comprenda antígeno de HA de dos o más cepas de virus de la gripe, preferiblemente de tres cepas, más preferiblemente de dos cepas de tipo A y una cepa de tipo B. La preparación según la presente invención es útil preferiblemente en el tratamiento profiláctico de seres humanos y por lo tanto preferiblemente comprende adicionalmente un excipiente y/o un disolvente aceptables farmacéuticamente. Excipientes aceptables farmacéuticamente son muy conocidos en la técnica y se pueden seleccionar por ejemplo entre lecithinum, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, y NaCl. Un disolvente adecuado es el agua.

- En una realización preferida, la invención se refiere a una preparación según la invención, en la que la concentración de antígeno de HA de cada cepas de gripe es aproximadamente 3,0 µg por cepas de gripe. Generalmente, la administración intramuscular de preparaciones virosómicas para la campaña de gripe estacional se realiza con 15 µg aproximadamente de HA por cepa de virus de la gripe. Como se describe en este documento, un quinto (20 %) de las preparaciones de este tipo que se usan para administración intramuscular se puede aplicar ahora por vía intradérmica obteniendo al mismo tiempo niveles apropiados de seroconversión, seroprotección y aumento de multiplicador-GMT. Por lo tanto, para administración intradérmica, la concentración preferida de HA por cepas de gripe es aproximadamente un quinto: aproximadamente 3,0 µg.
- Hay disponibles comercialmente preparaciones que comprenden virosomas a base de virus de la gripe y que comprenden antígeno de HA como el determinante inmunógeno. Se prefiere manejar muestras de un quinto de preparaciones de este tipo para uso intradérmico debido a la facilidad de producción. En una realización preferida, la invención se refiere a una preparación según la invención en la que la preparación es una composición de vacuna de Inflexal® V según se pone en el mercado por Berna Biotech AG, Suiza. Esta vacuna tiene típicamente un contenido de HA de cepas de gripe diferentes cada año, dependiendo de las recomendaciones de la OMS. Preferiblemente, la preparación según la invención no contiene una combinación trivalente de antígenos de HA de cepas de gripe A/Nueva Caledonia/20/99, A/Moscú/10/99 y B/Hong Kong/330/2001. Sin embargo, son posibles otras combinaciones de cualquiera de estas cepas o virus similares a estas cepas y se pueden incluir en una preparación según la presente invención.
- La presente invención también se refiere al uso de una preparación virosómica que comprende antígeno de HA de la gripe en la fabricación de una vacuna contra la gripe para administración intradérmica en sujetos humanos. Preferiblemente, la preparación en un uso según la invención no comprende antígenos de virus distintos de los virus de la gripe. Para la aplicación estacional se prefiere que la preparación comprenda antígeno de HA de dos o más cepas de virus de la gripe. Para la aplicación en pandemia se prefiere que la cepas de gripe única que causa la pandemia esté representada por su antígeno de HA en la preparación que se usa según la presente invención. En un uso preferido, la concentración de antígeno de HA para cada cepas de gripe, incluso cuando solamente una cepas de gripe está presente en la preparación, es aproximadamente 3,0 µg por cepas de gripe. Preferiblemente, se usa una composición de vacuna de Inflexal® V para la fabricación de un medicamento según la presente invención, en la que se prefiere que la preparación no contenga una combinación trivalente de antígenos de HA de cepas de gripe A/Nueva Caledonia/20/99, A/Moscú/10/99 y B/Hong Kong/330/2001.
- El suministro intradérmico permite volúmenes más bajos. Cuando la vacuna intramuscular original tiene un volumen de 0,5 ml (tal como Inflexal® V en una dosis única), se prefiere usar 20 % de este volumen en administración intradérmica. Por lo tanto, se prefiere que la vacuna se fabrique en un volumen de dosis única de 0,1 ml aproximadamente.
- Los virosomas pueden tener actividad adyuvante, y por lo tanto se podrían considerar adyuvantes. En este documento se muestra que no se requieren adyuvantes adicionales (es decir además de los virosomas) cuando se usa una preparación virosómica según la invención para vacunación intradérmica de seres humanos contra la gripe. Por ello, la composición de la vacuna de la presente invención no comprende adyuvantes adicionales. Dichos adyuvantes adicionales pudieran dar origen a efectos laterales, que de este modo se esquivan según la invención. Además, la invención tampoco requiere la fabricación y pruebas de estos componentes adyuvantes adicionales, economizando así los costes y la complejidad adicionales que estarían asociados con adyuvantes adicionales.
- La invención también se refiere a combinaciones de la preparación según la invención y el dispositivo de suministro con el que se está suministrando por vía intradérmica. Por ello, la invención también se refiere a un kit que comprende una preparación según la invención y un dispositivo de suministro adecuado para suministro intradérmico de vacunas. Aun son más preferidos los kits en los que la preparación ya está presente dentro del dispositivo de suministro, lo que permite al facultativo sanitario administrar más fácilmente la vacuna al sujeto humano. Dispositivos de suministro preferidos que se usan en un kit según la invención son los dispositivos que se ponen en el mercado bajo en nombre MicronJet por NanoPass®. Estos y otros dispositivos de suministro que se pueden usar en el kit según la invención son los que se describen en cualquiera de las siguientes patentes y solicitudes de patente: US 4886499, US 5190521, US 5328483, US 5527288, US 4270537, US 5015235, US 5141496, US 5417662, WO 99/34850, EP 1092444, US 5480381, US 5599302, US 5334144, US 5993412, US, 5649912, US 5569189, US 5704911, US 5383851, US 5893397, US 5466220, US 5339163, US 5312335, US 5503627, US 5064413, US 5520639, US 4596556, US 4790824, US 4941880, US 4940460, US 6494865, US 6569123, US 6569143, US 6689118, US 6776776, US 6808506, US 6843781, US 6986760, US 7083592, US 7083599, WO 2004/069302, WO 2004/098676, WO 2004/110535, WO 2005/018703, WO 2005/018704, WO 2005/018705, WO 2005/086773, WO 2005/115360, WO 02/02178, WO 02/02179, WO 02/083205, WO 02/083232, WO 03/066126, WO 03/094995, WO 2004/032990, WO 2004/069301, WO 97/37705, y WO 97/13537.
- La invención se refiere además a un procedimiento de vacunar a un sujeto humano contra infecciones de gripe, comprendiendo dicho procedimiento administrar por vía intradérmica al sujeto humano una preparación virosómica que comprende hemaglutinina (HA) de gripe sin adyuvante adicional. La invención también proporciona un procedimiento para vacunar a sujetos mamíferos contra infecciones de gripe, comprendiendo dicho procedimiento

las etapas de preparar una vacuna contra la gripe a base de virosoma que comprende antígeno de HA de una cepas de gripe, y administrar la vacuna por vía intradérmica. Preferiblemente, los mamíferos son seres humanos. En una situación de amenaza de pandemia, la vacuna comprende preferiblemente antígeno de HA solamente de la cepa que es de interés y que causa la amenaza de pandemia. Sin embargo, durante las operaciones, protocolos y campañas de vacuna estacional general, se prefiere que la vacuna que se administra por vía intradérmica según la presente invención sea una vacuna trivalente, que comprenda HA de tres cepas de gripe diferentes, más preferiblemente de dos cepas de tipo A y una cepa de tipo B.

En otra realización preferida, la vacuna comprende 1-10, por ejemplo aproximadamente 3,0 µg de antígeno de HA de la cepa única, o en el caso de la vacuna trivalente, de cada una de las cepas de gripe. En una realización incluso más preferida, la vacuna contra la gripe a base de virosoma es una vacuna comercializada por Berna Biotech AG bajo la marca registrada de vacuna Inflexal® V. Preferiblemente, la invención se refiere a un procedimiento según la invención en el que la vacuna no contiene una combinación trivalente de antígenos de HA de cepas de gripe A/Nueva Caledonia/20/99, A/Moscú/10/99 y B/Hong Kong/330/2001. Como se muestra aquí, la administración se realiza preferiblemente usando un dispositivo de suministro adecuado para suministro intradérmico de vacunas. Un dispositivo que es adecuado para suministro intradérmico puede ser una aguja hipodérmica única. Se ha encontrado que ciertos dispositivos están hechos de tal manera que sus agujas no pueden pasar más allá de las capas de la piel que darían como resultado unos suministros intradérmicos subóptimos. En otras palabras, ciertos dispositivos contienen agujas que son tan cortas que la mayor parte, si no toda la preparación de vacuna se suministra por vía intradérmica. Dispositivos preferidos que se usan en los procedimientos según la invención son dispositivos de suministro que contienen dos o más canales de suministro separados, tales como microagujas o MicroPyramids. Más preferiblemente, un dispositivo de suministro de este tipo contiene cuatro o más canales de suministro separados. Es altamente preferido un dispositivo de suministro de NanoPass®, tal como un dispositivo MicronJet.

## 25 Ejemplos

Ejemplo 1. Prueba clínica con vacuna contra la gripe a base de virosoma en sujetos humanos (3 µg de HA de cada cepa)

Se realizó una prueba clínica con sujetos humanos con Inflexal® V para evaluar la seguridad y las respuestas humorales de una vacuna administrada por vía intradérmica en un grupo de estudio anidado. El estudio era abierto y no aleatorio. La vacuna que se usó era la vacuna trivalente de gripe con adyuvante virosómico, vacuna Inflexal® V que se había desarrollado y estudiado para la estación de la gripe de 2006-2007. Una dosis de esta vacuna intramuscular contenía (originalmente) 15 µg de hemaglutinina de cada una de las tres siguientes cepas de gripe: A/Nueva Caledonia/20/99(H1N1;IVR-116), A/Hiroshima/52/2005 (H3N2; IVR-142; un virus tipo A/Wisconsin/67/2005) y B/Malaysia/2506/2004 acoplado a virosomas en 0,5 ml de disolvente. Se realizó la administración intradérmica con una parte del 20 % de la vacuna: una dosis única de 0,1 ml que contenía 3 µg de HA de cada cepa de gripe usando una jeringuilla de inyección normal con aguja. El estudio intradérmico implicó a 23 voluntarios sanos que tenían todos entre 18 y 60 años de edad (intervalo de edad: 19,2 a 59,6). Los estándar usados eran los establecidos por la EMEA. El estudio se comparó con una administración intramuscular que se realizó con una dosis única de 0,5 ml de vacuna (la dosis IM normal) en 56 adultos que tenían entre 18 y 60 años (intervalo de edad: 21,1 a 59,8) y en 58 adultos que tenían más de 60 años de edad (intervalo de edad: 60,4 a 83,3). La toma de muestras se realizó 20 a 24 días después de la vacunación.

La figura 1A muestra la tasa de seroconversión (%) en los vacunados después de suministro intramuscular (IM) y después de suministro intradérmico (ID), y muestra que para las tres cepas se cumplió el estándar establecido (>40 % de seroconversión) en ambos procedimientos de suministro. La figura 1B muestra que también se cumplió el estándar de aumento de multiplicador-GMT (2,5 veces) para las tres cepas. La FIG 1C muestra que la seroprotección fue suficiente (>70 %) para las dos cepas A, mientras que la tasa de seroprotección para la cepa B no se cumplió tras el suministro intradérmico. Sin embargo, cuando se compararon los resultados obtenidos con las personas mayores (>60 años), como se muestra en la figura 2C, el suministro intramuscular tampoco dio como resultado una tasa de protección que estuviera por encima de 60 % que es el estándar para este grupo de edad. Lo más probablemente, este resultado se debe a la inmunogenicidad del antígeno de HA de esta cepas de gripe de tipo B. Las FIGS. 2A y 2B muestran los resultados tras administración intramuscular en el grupo de edad >60 años, que indican que se alcanzaron niveles de una magnitud suficiente para cumplir los estándar de EMEA. La figura 3 proporciona una visión de conjunto de los resultados, en la que a+ (más) indica cumplimiento del estándar, y a-(menos) indica que no se cumplió el estándar.

Estos estudios muestran que cuando se administra por vía intradérmica una vacuna contra la gripe a base de virosoma en una concentración de 3 µg de cada cepa (dos cepas de tipo A, y una cepa de tipo B) en seres humanos, se cumplen los estándar de seroconversión y GMT para las tres cepas, mientras que la tasa de seroprotección se cumple para al menos las dos cepas A. Esto era muy inesperado y está en fuerte contraste con los hallazgos que se describieron en el documento WO 2004/016281, en el que se mostraba que los regímenes de vacunación de este tipo no cumplían los estándar establecidos por las autoridades para ninguna de las tres cepas que se usan en este documento.

Ejemplo 2. Estudio de escalado de dosis (e intramuscular vs. intradérmico) con vacunas contra la gripe a base de virosoma en sujetos humanos.

Se realizó un segundo estudio clínico con individuos humanos para evaluar la respuesta inmunitaria humoral de una vacuna contra la gripe estacional con adyuvante virosómico administrada por vía intradérmica. Esto implicaba un estudio de escalado de dosis, de centro único, aleatorio, en el que se administró por vía intradérmica vacuna trivalente de gripe Inflexal® V para la estación de la gripe de 2007-2008 en un volumen de 0,1 ml, y en el que una dosis comprendía 3, 4,5 o 6 µg de HA de cada cepa (A/Islas Salomón/3/2006[H1N1]; A/Wisconsin/67/2005 [H3N2]; B/Malaysia/2506/2004). La vacuna suministrada por vía intramuscular se tomó como control positivo (conteniendo 3 x 15 µg de HA por cepa en una dosis de 0,5 ml). Además, se probó si se podía usar también un dispositivo de microaguja desarrollado por NanoPass (que generalmente se denomina en este documento dispositivo MicronJet) para suministrar el antígeno por vía intradérmica, y si se podían obtener resultados beneficiosos.

El dispositivo MicronJet generalmente hace uso de "agujas" o canales de inyección múltiple con una profundidad de inyección constante y determinada, en contraste con una aguja hipodérmica única que tiene solamente un canal y que tiene una profundidad de inyección variable mayor (que depende mucho de la persona que administra la vacuna). El dispositivo MicronJet en general es un sustituto de las agujas diseñado para suministro intradérmico sin dolor de fármacos y vacunas. Montado sobre una jeringuilla estándar en lugar de la aguja convencional, el MicronJet se puede usar para inyectar prácticamente cualquier sustancia permitiendo suministro intradérmico controlado. Es muy adecuado para suministro intradérmico de fármacos, proteínas y vacunas, y requiere habilidad mínima del operador. El cabezal del dispositivo contiene una matriz de pequeñas agujas, microagujas, también denominadas "MicroPyramids", cada una de menos de medio milímetro de alta. Como las microagujas son tan cortas, no alcanzan las terminales nerviosas libres de la piel, que son responsables de la sensación de dolor, de modo que no hay "pinchazo de aguja" doloroso, y se puede administrar la mayoría de las sustancias sin ningún dolor. Las microagujas son tan pequeñas, que apenas son visibles a simple vista, haciendo al dispositivo MicronJet mucho menos intimidatorio que una aguja convencional, y perfecto para niños y pacientes con fobia a las agujas.

En línea con la dosis más baja en el estudio de escalado de dosis, el grupo de estudio del dispositivo MicronJet también recibió 3,0 µg de HA de cada cepa. El estudio entero implicó cinco grupos en total. Cada grupo contenía 56 individuos, en los que tres grupos recibieron administración intradérmica usando una aguja hipodérmica única (grupos A1, A2, A3), un grupo recibió la inyección intramuscular (grupo B; dosis de 15 µg), y un grupo recibió la inyección intradérmica con un dispositivo de microaguja (grupo C; dosis de 3,0 µg). El grupo A1 recibió 3 µg de HA de cada cepa, el grupo A2 recibió 4,5 µg de HA de cada cepa, y el grupo A3 recibió 6 µg de HA de cada cepa.

El día 1, antes de la vacunación, se tomó una muestra de pre-vacunación, y 22 días después de inmunización, se obtuvo otra muestra de cada individuo. La Tabla 1 proporciona los detalles del estudio que indican la media de edad en cada grupo, el sexo de las personas por grupo de estudio, y el título de GMT previo a la prueba para las diferentes cepas. Se determinaron los parámetros de aumento de multiplicador-GMT, seroprotección y seroconversión como en el ejemplo anterior.

La figura 4 muestra la tasa de seroconversión de las muestras previas a inmunización (panel de la izquierda) en comparación con las muestras en el día 22 después de la inmunización (panel de la derecha) para las tres cepas y para todos los grupos. Muestra claramente que antes de la vacunación, ninguno de los grupos en general contenía títulos protectores suficientes frente a ninguna de las cepas, mientras que cada grupo, después de recibir las vacunas alcanzó niveles medios de seroprotección que en casi todos los casos llegaron por encima del umbral del 70 %.

En la figura 5, se representan gráficamente los niveles de GMT para los grupos intradérmicos A1, A2, y A3, que recibieron 3, 4,5 y 6 µg de HA por cepa por vía de la aguja hipodérmica. Muestra claramente que hay un aumento sustancial en GMT. El aumento del multiplicador-GMT se muestra en la Fig. 6 (panel de la derecha), que indica se alcanza el umbral (multiplicador >2,5) de aumento (línea discontinua), también en el caso del virus tipo B. Este nivel se alcanza incluso con la dosis más baja de 3 µg de antígeno de HA. La figura 6, panel de la izquierda y del medio, también muestra las tasas de seroconversión y seroprotección de los grupos que recibieron estas tres dosis bajas por vía de la aguja hipodérmica. Excepto para la dosis de 3 µg de HA de la cepa B, todas las vacunas proporcionaron unas tasas suficientes por encima del umbral que se ha considerado en este documento (seroconversión de 40 % y seroprotección de 70 %). Se confirma así la inmunogenicidad de las vacunas para cada cepa.

La administración intramuscular de la dosis básica de 15 µg de HA (grupo B) se comparó también con la dosis de 3 µg de HA administrada por vía de la aguja hipodérmica (grupo A1). La Fig. 7 muestra (panel de la izquierda) que se obtuvieron tasas de seroconversión suficientes, mientras que (panel del medio), en línea con lo que se muestra en la figura 6 (panel del medio, tres barras de la izquierda), solamente se obtuvo seroprotección con respecto a las cepas A, y que el nivel de seroprotección de la cepa B estaba justo por debajo del umbral del 70 %. El aumento del multiplicador-GMT (panel a la derecha) fue suficiente en ambas dosis alta y baja administradas por vía de la ruta intramuscular y la intradérmica respectivamente.

El suministro intramuscular de 15 µg de HA por cepa (grupo B) se comparó también con el suministro intradérmico de 3 µg de HA por cepa administrados con el dispositivo NanoPass (MicronJet) (grupo C). Las tasas de seroconversión de la dosis baja alcanzaron niveles más que aceptables en comparación con el suministro intramuscular de dosis alta y, de manera importante, las tasas de seroprotección (incluyendo las de virus de tipo B) alcanzaron el nivel umbral (figura 8, paneles de la izquierda y del medio). Así, en contraste con el suministro intradérmico de la aguja hipodérmica única, el dispositivo MicronJet de aguja múltiple hizo una contribución extra, porque se aumentó aún más la tasa de seroprotección inducida de virus de tipo B. Dado que el dispositivo de suministro de NanoPass hace uso de varias agujas muy pequeñas (o MicroPyramids), se concluye que al usar sitios de inyección múltiple en una zona muy pequeña de la piel se amplía el área en la que se suministra la vacuna. Esto hace que se aumente adicionalmente el efecto de la vacunación. Por lo tanto, se prefiere tener sitios de inyección múltiple simultánea al aplicar suministro intradérmico. En este contexto, simultáneo significa que al mismo tiempo, la dosis de vacuna se suministra al hospedador por canales múltiples, separados en un dispositivo único, y preferiblemente en un disparo único. Preferiblemente, en dicho dispositivo de suministro único de este tipo se usa más de un canal (pequeña aguja, microaguja, o MicroPyramid): se prefiere usar al menos dos, tres o cuatro canales, e incluso más preferiblemente se usan más de cuatro canales. Lo más preferiblemente, se usa un dispositivo en el que se usa un alto número de canales que todavía permite el flujo de la composición de vacuna y que permita la separación en canales múltiples sin obstrucción, y que permita que el suministro de la composición de vacuna dé como resultado una vacunación con eficacia suficiente (alcanzando el umbral); esto es, alcanzando niveles aceptables de seroconversión, seroprotección y aumento de GMT.

La figura 8, panel de la derecha, muestra el aumento en los títulos de GMT cuando los títulos previos a la vacunación se comparan con los títulos posteriores a la vacunación, entre el suministro intramuscular que usa una aguja convencional y el suministro intradérmico que usa el dispositivo de NanoPass. De manera sorprendente, cuando una dosis más baja con factor 5x de antígeno de HA se administra por la ruta intradérmica, se detecta un aumento de título GMT más alto para cada una de las tres cepas cuando se compara con la ruta intramuscular y la dosis más alta. Por lo tanto, se concluye que se obtienen títulos de GMT aceptables y suficientes para cepas de gripe de tipos A y B y que se puede usar al menos una dosis más baja con factor 5x (en este caso desde dosis de HA de 15 µg [por cepa] hasta dosis de HA de 3 µg [por cepa]), cuando se combina una vacuna contra la gripe a base de virosoma con una ruta de suministro intradérmico, preferiblemente usando un dispositivo de NanoPass como se describe en este documento. Esto significa que usando un kit según la invención, en el que se combina una vacuna contra la gripe a base de virosoma con un dispositivo de suministro intradérmico, preferiblemente un dispositivo multicanal tal como los desarrollados por NanoPass, se puede conseguir un drástico ahorro de dosis, lo que da como resultado un número de dosis disponible mucho más alto para la población del mundo entero, especialmente en casos tales como amenazas de pandemia.

La figura 9 muestra resultados similares cuando se compara el suministro intradérmico que usa una aguja hipodérmica (tres barras de la izquierda en cada panel) con el dispositivo MicronJet (tres barras de la derecha en cada panel): la ampliación de los sitios de inyección (usando canales múltiples simultáneamente) da como resultado un mayor aumento de títulos de GMT. Cada barra de la izquierda representa la cepa A/islas Salomón, las barras del medio representan la cepa A/Wisconsin y las barras de la derecha representan la cepa B/Malaysia. Al comparar las dosis bajas de 3 µg de HA por cepa ya sean administradas con aguja hipodérmica única o administradas con dispositivo MicronJet, resulta que la tasa de seroprotección del virus de tipo B que se quedaba por debajo del nivel de umbral del 70 % al usar la aguja única, alcanza un nivel por encima de 70 % cuando la vacuna a base de virosoma se administra a través de las agujas múltiples del dispositivo MicronJet NanoPass. Esto indica claramente el efecto beneficioso de inmunogenicidad y el valor añadido de usar sitios de inyección múltiple en un disparo único.

Tras la determinación de los títulos HAI y del análisis estadístico, se puso de manifiesto que la diferencia entre los grupos de dosis de 3,0 µg (intradérmico con aguja hipodérmica única e intradérmico con el dispositivo MicronJet) con respecto al virus B/Malaysia era significativa, porque el grupo de MicronJet tenía títulos HAI más altos con significación estadística ( $p=0,001$ ) con respecto a este virus de tipo B. A partir del mismo análisis se puso de manifiesto que la diferencia entre el grupo de dosis de 15 µg (intramuscular) y el grupo de 3,0 µg de MicronJet con respecto de la cepa A/Wisconsin también fue significativamente diferente porque el grupo que recibió la vacuna a través del dispositivo MicronJet tenía títulos HAI más altos con significación estadística ( $p=0,008$ ) que el grupo que recibió la dosis cinco veces más alta a través del dispositivo intramuscular.

Con todo ello, se concluye que un suministro intradérmico de una vacuna contra la gripe da como resultado suficientes tasas de seroprotección y seroconversión. Más aún, se puede concluir que dichas tasas se pueden conseguir, incluso cuando se administran dosis mucho más bajas (3, 4,5 y 6 µg de HA de cada cepa) que las que se usan generalmente en las campañas y operaciones de vacuna contra la gripe (15 µg de HA de cada cepa). Además, se concluye que se prefiere usar un dispositivo de suministro multicanal y/o al menos un dispositivo que tiene una profundidad de inyección constante y estándar para conseguir suministro intradérmico "auténtico" (sin ir más allá de la dermis). Dado que no se pudo detectar aumento con relación a la dosis en este estudio, por ejemplo de tal manera que la dosis de 3,0 µg de HA tuviera menos rendimiento que la dosis de 4,5 µg o que la dosis de 6,0 µg, es probable que cuando se use suministro intradérmico con una vacuna contra la gripe a base de virosoma tal como la

vacuna Inflexal®, según se describe en este documento, la dosis se pueda rebajar aún más. In otras palabras, se puede concluir que ya se ha alcanzado una meseta al usar 3,0 µg de HA de cada cepa, al menos cuando se administra por vía intradérmica. Queda por investigar si se pueden usar dosis más bajas que 3,0 µg de HA por cepa.

- 5 Tabla I. Características de referencia del 2º estudio clínico de fase II que usa suministro intradérmico de vacuna contra la gripe Inflexal®

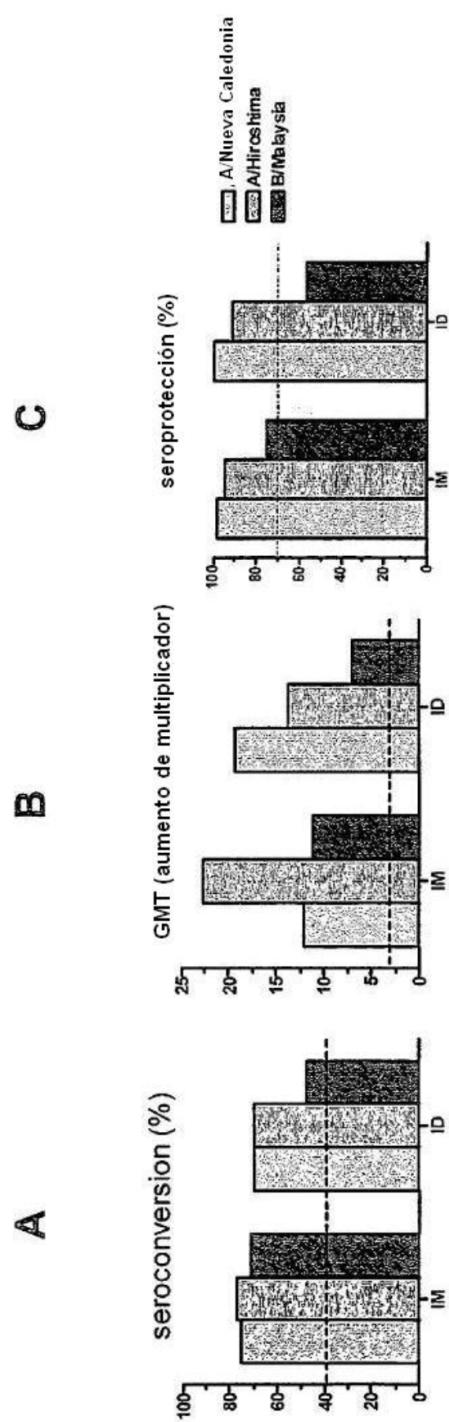
	IM 15 µg	ID			ID MicronJet 3 µg
		3 µg	4,5 µg	6 µg	
Número n	56	56	56	56	56
Mujeres n	30	31	24	30	34
Edad media [a]	36,1	39,5	38,4	39,6	34,1
Título GMT pre-prueba					
A/Islas Salomón	20,9	27,4	25,4	16,4	22,9
A/Wisconsin	40,9	52,9	45,3	34,0	38,3
B/Malaysia	8,5	10,5	9,0	8,1	6,4

## Referencias

- 10 Belshe R.B.y otros (2004). Serum antibody responses after intradermal vaccination against influenza. New Engl. J. Med. 351: 2286-2294.
- 15 Glück R. (1992). Immunopotentiating reconstituted influenza virosomes (IRIVs) and other adjuvants for improved presentation of small antigens. Vaccine 10:915-920
- Hosaka Y. y otros (1983). Hemolysis by liposomes containing influenza virus hemagglutinins. J. Virol. 46:1014-1017.
- 20 Huang R.T. y otros (1979). Association of the envelope glycoproteins of influenza virus with liposomes--a model study on viral envelope assembly. Virology 97:212-217.
- Huckriede A. y otros (2005). The virosome concept for influenza vaccines. Vaccine 23 Suppl. I :S26-38.
- 25 Kawasaki K. y otros (1983). Membrane fusion activity of reconstituted vesicles of influenza virus hemagglutinin glycoproteins. Biochim. Biophys. Acta. 733:286-290.
- Kenney R.T. y otros (2004). Dose sparing with intradermal injection of influenza vaccine. New Engl. J. Med. 351 :2295-2301.

**REIVINDICACIONES**

1. Una preparación virosómica que comprende antígeno de hemaglutinina (HA) de la gripe en la que la preparación no contiene adyuvante adicional, para uso como vacuna intradérmica contra la gripe en sujetos humanos.
- 5 2. Una preparación para uso como vacuna intradérmica contra la gripe en sujetos humanos, según la reivindicación 1, que comprende antígeno de HA de dos o más cepas de virus de la gripe.
- 10 3. Una preparación para uso como vacuna intradérmica contra la gripe en sujetos humanos, según una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en la que la concentración de antígeno de HA de cada cepa de gripe está entre 1 y 10 µg por cepas de gripe, preferiblemente aproximadamente 3,0 µg por cepas de gripe.
- 15 4. Una preparación para uso como vacuna intradérmica contra la gripe en sujetos humanos, según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que dicha preparación no contiene la combinación trivalente de antígenos de HA de cepas de gripe A/Nueva Caledonia/20/99, A/Moscú/10/99 y B/Hong Kong/330/2001.
- 20 5. Uso de una preparación virosómica que comprende antígeno de HA de la gripe en la fabricación de una vacuna contra la gripe para administración intradérmica en sujetos humanos, en el que la preparación no contiene adyuvante adicional.
- 25 6. Uso según la reivindicación 5, en el que dicha preparación comprende antígeno de HA de dos o más cepas de virus de la gripe.
7. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 5-6, en el que la concentración de antígeno de HA de cada cepa de gripe está entre 1 y 10 µg por cepas de gripe, preferiblemente aproximadamente 3,0 µg por cepas de gripe.
- 30 8. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, en el que dicha vacuna se fabrica en un volumen de dosis única de aproximadamente 0,1 ml.
9. Un kit que comprende:
  - a) una preparación virosómica que comprende antígeno de hemaglutinina (HA) para la vacunación de sujetos humanos contra la gripe, en la que la preparación no contiene adyuvante adicional y en la que la preparación no contiene antígenos de virus distintos de los virus de la gripe; y
  - 35 b) un dispositivo de suministro adecuado para suministro intradérmico de vacunas.
10. Un kit según la reivindicación 9, en el que dicho dispositivo de suministro contiene dos o más canales de suministro separados, tales como microagujas o MicroPyramids, preferiblemente dicho dispositivo de suministro contiene cuatro o más canales de suministro separados.
- 40 11. Un kit según la reivindicación 9 o la 10, en el que la preparación virosómica comprende antígeno de HA de dos o más cepas de virus de la gripe.
- 45 12. Un kit según una cualquiera de las reivindicaciones 9-11, en el que la concentración de antígeno de HA de cada cepa de gripe está entre 1 y 10 µg por cepas de gripe, preferiblemente aproximadamente 3,0 µg por cepas de gripe.
- 50 13. Un kit según una cualquiera de las reivindicaciones 9-12, en el que dicha preparación no contiene la combinación trivalente de antígenos de HA de cepas de gripe A/Nueva Caledonia/20/99, A/Moscú/10/99 y B/Hong Kong/330/2001.

**FIG. 1**

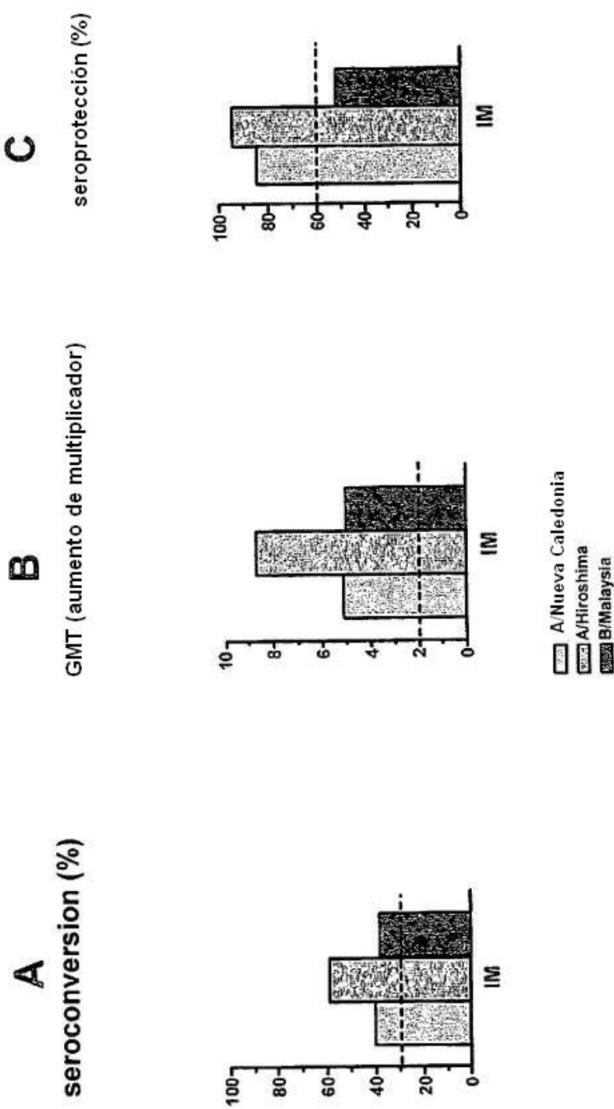


FIG. 2

			IM			ID		
			SC	GMT	SP	SC	GMT	SP
18-60	a	A/Nueva Caledonia	+	+	+	+	+	+
		A/Hiroshima	+	+	+	+	+	+
		B/Malaysia	+	+	+	+	+	-
>60	a	A/Nueva Caledonia	+	+	+			
		A/Hiroshima	+	+	+			
		B/Malaysia	+	+	-			

FIG. 3

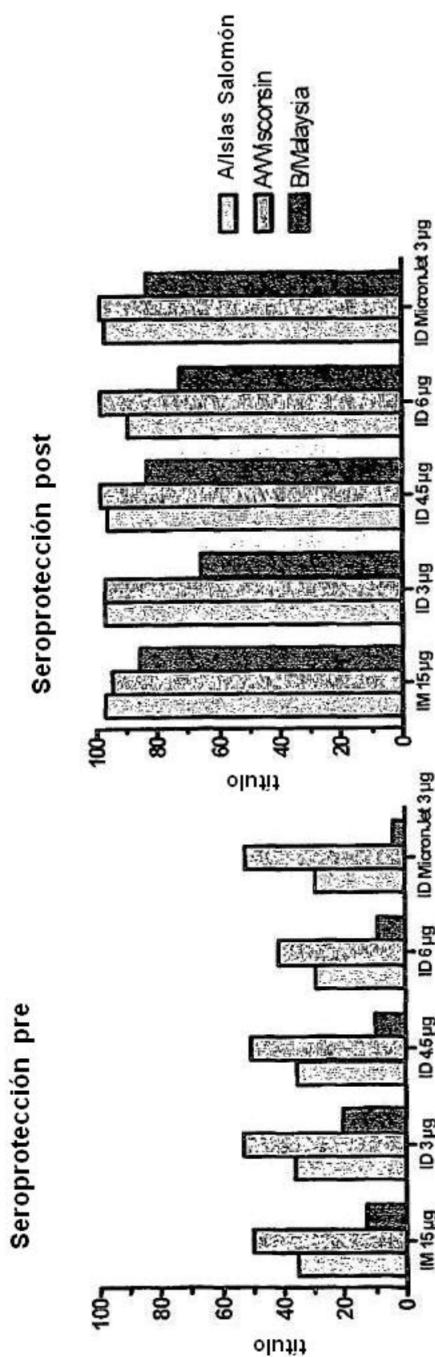


FIG. 4

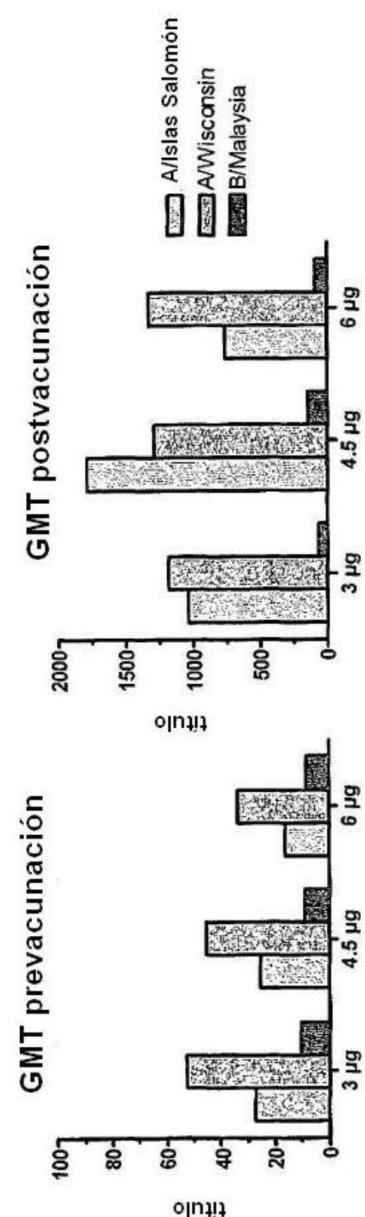


FIG. 5

FIG. 6

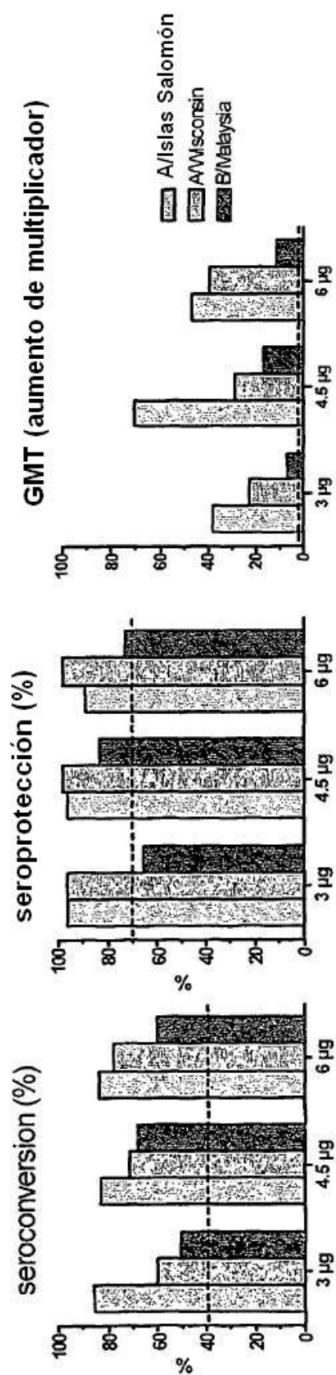


FIG. 7

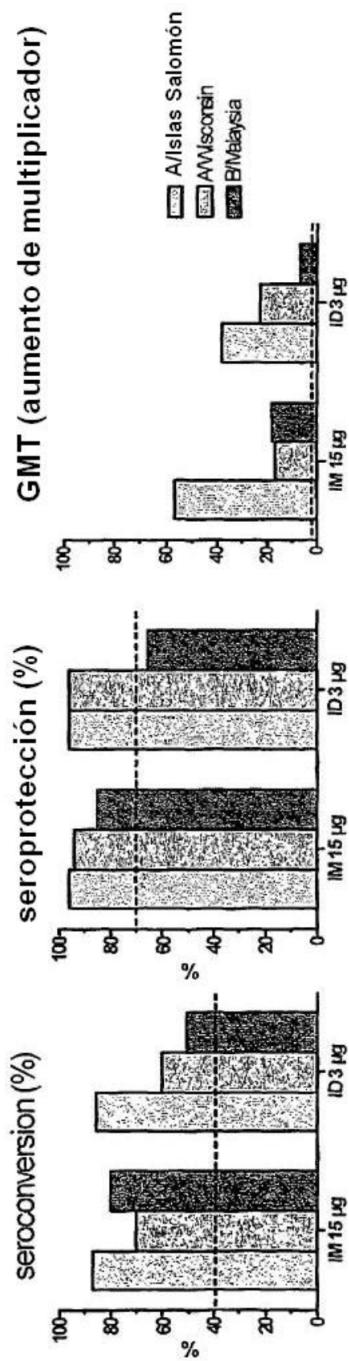
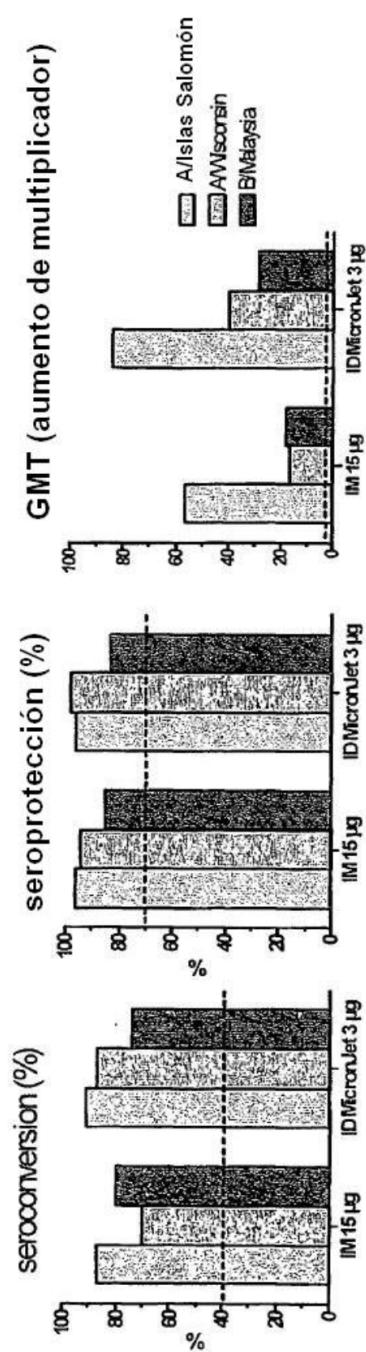


FIG. 8



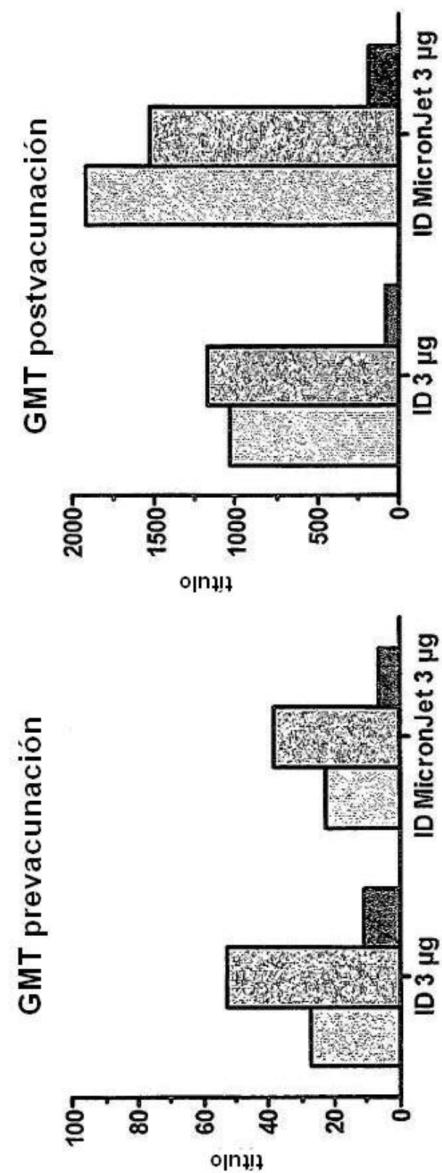


FIG. 9

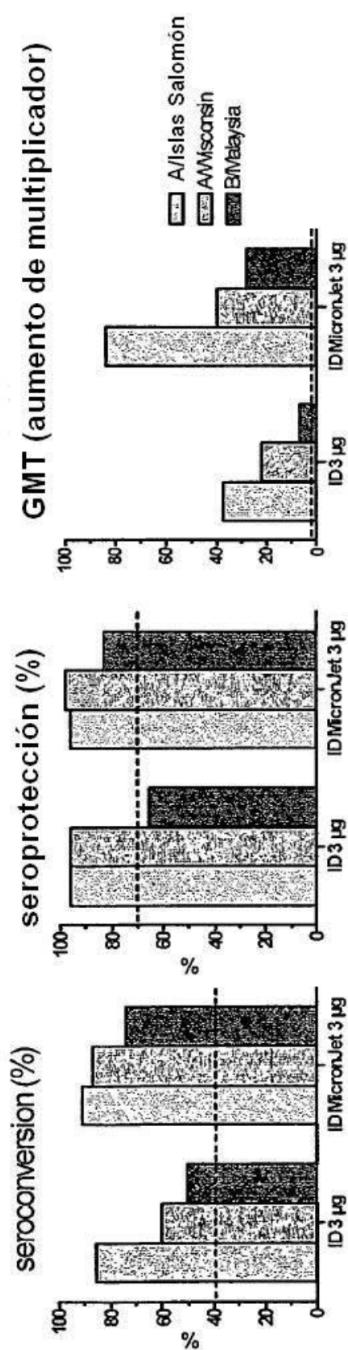


FIG. 10