

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 542 020**

51 Int. Cl.:

**A61K 48/00** (2006.01)

**A61K 39/155** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2005** **E 05823432 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.05.2015** **EP 1807116**

54 Título: **Vacunación antigripal**

30 Prioridad:

**03.11.2004 US 624973 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**29.07.2015**

73 Titular/es:

**NOVARTIS VACCINES AND DIAGNOSTICS, INC.  
(100.0%)  
INTELLECTUAL PROPERTY - R440 P.O. BOX  
8097  
EMERYVILLE, CA 94662-8097, US**

72 Inventor/es:

**O'HAGAN, DEREK**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**ES 2 542 020 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**

**Vacunación antigripal**

**CAMPO DEL INVENTO**

5 Este invento es sobre vacunas de virus de influenza y en particular vacunas pediátricas para entrega a las células Langerhans.

**CONTEXTO DEL INVENTO**

10 En el pasado, las vacunas de influenza han sido generalmente administrado en pacientes con riesgos particulares de consecuencias de infección de influenza como en niños con asma, enfermedades cardíacas, anemia falciforme, HIV o diabetes; niños que habitan en núcleos familiares con algún miembro con asma, enfermedades cardíacas, anemia falciforme, HIV o diabetes; y los ancianos.

15 Hasta hace muy poco, hubo propuestas para extender el alcance de la vacuna de influenza a todos los niños y no solo a los que están en alto riesgo. Para aumentar la cobertura en esta manera, se requeriría un gran incremento en la capacidad de producción y los fabricantes de vacunas no están bien ubicadas para alcanzar ese nivel. El almacenamiento de vacunas no es posible porque las cadenas de suministro cambian todos los años y se producen casi de manera justo a tiempo.

20 Por lo tanto no hay necesidad de aumentar las dosis disponibles de vacunas de influenza para tratar la demanda en aumento de vacunas pediátricas.

**25 DIVULGACIÓN DE LA INVENCION**

Los virus de influenza ha sido administrado tradicionalmente por inyecciones intramusculares, aunque hasta hace poco se aprobó una vacuna intranasal para uso humano [1]. La invención se basa en la idea del uso alternativo de rutas de entrega para vacunas de influenza, más concretamente, rutas que no requieran una dosis de antígeno. La entrega del antígeno de influenza a las células Langerhans es la ruta elegida según el intento. Se halló que esta ruta es muy útil para vacunar pacientes que son susceptibles al virus de influenza (por ejemplo, no tienen un aumento previo una respuesta inmune a un virus de influenza), que significa que no tenga la ventaja de inmunizar a niños pequeños. Además, la entrega a las células Langerhans puede ofrecer una inmunidad heterosubtípica mejorada en comparación a la inyección intramuscular.

30 Así como un aumento en el número de dosis de vacunas que se pueden producir a partir de una cantidad dada de antígeno, un alejamiento de la inyección intramuscular quiere decir que la invención evita el dolor asociado con una vacuna de influenza por lo tanto, se mejora el confort y el cumplimiento del paciente.

35 Por lo tanto, la invención brinda una composición inmunogénica que comprende un antígeno de virus de influenza para uso en un método de inmunización de pacientes contra virus de influenza, que comprende el paso de administrar la composición inmunogénica al paciente donde:

- (a) el paciente es no tratado previamente al virus de influenza; y
- (b) la composición inmunogénica se entrega a las células Langerhans del paciente por la microporación con microagujas que abren poros en el estrato corneo del paciente, donde las microagujas van desde los 25 um a 1 mm; y

40 donde el antígeno del virus de influenza viene en forma de un virus inactivado o virosoma, o donde el antígeno del virus de influenza se produce en un sistema recombinante o sintético que no implica el crecimiento de virus de influenza.

50 El invento también brinda una composición inmunogénica que comprende un antígeno de virus de influenza para usar en un método para inmunizar un paciente con un virus de influenza que comprende el paso de administrar una composición inmunogénica al paciente donde:

- (a) el paciente es no tratado previamente al gen del virus de influenza y/o subtipo; y
- (b) se entrega la composición inmunogénica a las células Langerhans del paciente por una microporación usando micro agujas que abren poros en el estrato corneo del paciente donde los microagujas varían en extensión desde 25 um a 11; y

55 donde el antígeno del virus de influenza está en forma de virus inactivado o un virosoma o donde se produce el antígeno del virus de influenza en un sistema recombinante o sintético que no implica el crecimiento de virus de influenza.

**60 El paciente**

El invento concierne la inmunización de pacientes que son no tratados previamente al virus de influenza. Dicho de otro modo, los pacientes susceptibles una respuesta inmune al virus de influenza. Los pacientes no fueron afectados antes por un virus de influenza y no habrán sido inmunizados contra el virus de influenza. Típicamente, por lo tanto, el paciente es un niño de entre 0 y 18 meses más usualmente entre 0 y 12 meses y a menudo entre 0 y 6 meses. La

edad más preferida para la vacunación con el presente invento es entre los 4 y 18 meses, por ejemplo, entre los 5 y 7 meses o alrededor de los 6 meses.

5 En un aspecto alternativo del invento, el paciente pudo haber sss una respuesta inmune a un virus de influenza , pero va a ser sss en relación al gen de influenza (por ejemplo virus de influenza A o B) y /o subtipo (H o N, pero particularmente el subtipo H) de la vacuna administrada. Ese paciente puede ser un niño (de entre 0 meses y 12 años), un adolescentes (entre 13 y 19 años), un adulto joven (de 20 a 35 años) o un adulto de edad media (36 a 64 años) o un adulto mayor (65 años en adelante).

10 Pudo haber recibido vacunas el paciente contra una o mas (por ejemplo 1,2,3,4,5,6 o 7) de difteria, tetanos, tos ferina Haemophilus influenzae tipo b, virus de hepatitis b, virus de polio y / o Streptococcus pneumoniae.

15 Por lo general, el paciente no ha recibido vacunas contra virus de sarampión, paperas, rubiola, varicela o hepatitis A. De preferencia, el paciente no tiene asma, enfermedades cardíacas, célula falciforme, HIV o diabetes. De forma similar, el paciente no vive en un ambiente en que un miembro de la familia tenga asma, enfermedades cardíacas, células falciformes, HIV o diabetes.

**El virus de influenza y los antígenos de virus de infleunza**

20 El invento emplea antígenos de virus de infleunza para inmunizar contra la infección de virus de influenza. El virus específico del que se deriva el antígeno puede ser el mismo o ser diferente del virus específico para el que se brinda la protección porque se sabe que ocurre sss entre diferentes aislados ocurren con los virus de influenza en particular dentro de los mismos subtipos vitales.

25 Ademásm el invento puede usar antígenos de más de un virus de infleunza para inmunizar contra más de un virus de influenza. Las cepas vacunales para los virus de influenza cambian de estación a estación. En el presente periodo inter pandémico las vacunas por lo general incluyen dos cepas de influenza A (H1N1 y H3N2) y una cepa de influenza B. Así el invento puede usar antígenos de de por lo menos una cepa de virus de infleunza A y/o por lo msnos una cepa de virus de influenza B. Se prefieren las vacunas trivalentes. Tambien el invento usa virus de cepas pandémicas como subtipo de cepas H2, H5, H7 o H9 , cepas a las que la población humana general es ssss. Las vacunas en situaciones pandémicas pueden ser monovalentes o se pueden basar en una vacuna trivalente normal suplementada por una cepa pandémica.

35 Donde una vacuna incluye más de una cepa de influenza, crecen diferentes cepas de forma separada y se mezclan luego de que los virus se hayan cultivado y los antígenos se hayan preparado.

40 Los virus de influenza que se usan en los procesos del invento puden ser cepas reordenantes y/o pueden haberse obtenido por técnicas genéticas reversas. Los virus pueden estar atenuados. Los virus pueden ser sensibles a la temperatura. Los virus pueden adaptarse al frío. Se puede usar una cepa reordenante que incluye los segmentos virales HA y/o NA de cepas patogénicas y los seis o siete segmentos restantes de una cepa no patogénica (por ejemplo A/PR/8/34).

45 El antígenos del virus de infleunza usado en la composición inmunogénica según el invento puede estar en forma de un virus inactivado. La inactivación de virus por lo general incluye tratamiento con químicos como formalina o B propiolactona sss. El antígeno del virus inactivado puede ser un virus entero, sss o subunidades virales. Se obtienen los sss al tratar viriones con detergentes (por ejemplo, etil éter, polisorbato 80, desoxicolato, fosfato de tri-n-butilo, Tritón X-100, Tritón N101, Bromuro de Hexadeciltrimetilamonio, etc) para producir preparaciones de subviriones sss. Las vacunas de subunidades comprenden una o ambos antígenos de superficie de influenza hemaglutinina y neuraniminidasa. Los antígenos de influenza también se pueden presentar en forma de sss [2] o se pueden producir en un sistema recombinante o sintético que no implica el crecimiento de virus de influenza.

50 Donde se repara un antígeno de un virus de influenza (por ejemplo, en vez de ser producido en un sistema recombinante o sintético que no implica crecimiento de virus de influenza), el virus puede crecer como sss o en cultivo celular. El crecimiento en ssss específicos embrionados libres y patógenos es la ruta tradicional por la que se desarrollan virus de influenza para producción de vacunas y el cutrivo de células es un desarrollo más reciente. Donde el cuttrivo de células es usado la vacuna de virus de influenza va a desarrollarse típicamente en células de mamíferos como las células MDCK [3-6], céluas Vero [7-9], PER. Las células C6 [10]. Estas líneas celulares están ampliamente disponibles, por ejemplo, en la colección [11] de la *American Type Cell Culture* (ATCC), o en los Repositorios de Coriell Cell [12]. Por ejemplo, la ATCC suministra varias células Vero diferentes catalogadas con los números CCL-81, CCL-81.2, CRL-1586 y CRL-1587, y suministra células MDCK catalogadas con el número CCL-34. También es posible el crecimiento en líneas celulares aviares [por ejemplo, ref. 13], incluyendo las líneas celulares derivadas de gallinas como por ejemplo fibroblastos de embrión de pollo (CEF).

**La composición inmunogénica o del medicamento**

65

Las composiciones inmunogénicas del invento son adecuadas para su administración a las células de Langerhans de un paciente. Esto se logra a través de la microporación mediante el uso de microagujas que abren los poros en el estrato córneo del paciente.

5 Las composiciones inmunogénicas del invento son presentadas preferiblemente como vacunas.

10 Las composiciones del invento pueden incluir un adyuvante. Los adyuvantes que han sido utilizados en las vacunas de la gripe incluyen sales de aluminio [17,18], quitosano [19], oligodesoxinucleótidos CpG tales como CpG 7909 [20], emulsiones de aceite en agua tales como MF59 [21], emulsiones de agua en aceite [22], toxina lábil al calor E. coli [23,24] y sus mutantes desintoxicados [25,26], monofosforil lípido A [27] y su derivado 3-o-desacilado [28], mutantes de toxina pertusis [29], muramil dipeptido [30], etc. Para la administración a las células de Langerhans, los adyuvantes que funcionan por mecanismos físicos no son los preferidos (por ejemplo, las emulsiones y los sales de aluminio); en su lugar, se prefiere utilizar adyuvantes inmunológicos como por ejemplo, que funcionan mediante la unión a receptores de la superficie celular, tales como los oligodesoxinucleótidos CpG.

15 La Hemaglutinina (HA) es el inmunogénico principal en las vacunas inactivadas contra la gripe, y las dosis de vacuna están estandarizadas con referencia a los niveles HA, generalmente medidos por un único ensayo [31,32] de inmunodifusión radial (SRTD). Las vacunas para la inyección intramuscular normalmente contienen aproximadamente 15µg de HA por cepa, aunque se utilizan también dosis más bajas (por ejemplo, para los niños, o en situaciones de pandemia) y se han utilizado dosis fraccionadas como ½ (es decir, 7.5µg HA por cepa), ¼, y 1/8 [17,33]. La administración a las células de Langerhans no requiere tantos antígenos como la inyección intramuscular, sin embargo, tales composiciones del invento incluirán generalmente entre 0,1 y 8µg de HA por cepa de la gripe, por ejemplo, preferiblemente por ejemplo aproximadamente 7,5, aproximadamente 5, aproximadamente 3, aproximadamente 2,5, aproximadamente 2, aproximadamente 1,5, aproximadamente 1, aproximadamente 0,75, aproximadamente 0,5, aproximadamente 0,4, aproximadamente 0,2, etc.

20 Las vacunas para la inyección intramuscular tienen generalmente un volumen de 0,5 ml. La administración a las células de Langerhans no requiere un volumen tan grande como la inyección intramuscular, sin embargo, tales composiciones del invento tendrán generalmente un volumen de entre 0,05 y 0,5 ml por ejemplo, entre 90µl y 250µl.

30 Las composiciones pueden incluir conservantes tales como el tiomersal o el 2-fenoxietanol. Es preferible, sin embargo, que las composiciones estén sustancialmente libres (es decir, menos de 1 µg /ml) de materiales de mercurio como por ejemplo el tiomersal [34,35]. Las vacunas que no contienen mercurio son las predilectas.

35 Donde ha crecido el virus de la gripe sobre un cultivo celular, las composiciones del invento contienen preferiblemente menos de 100 pg de ADN residual de la célula huésped por dosis, aunque pueda haber trazas del ADN de la célula huésped. El ADN contaminante puede ser eliminado durante la preparación de la vacuna usando procedimientos de purificación estándar, como por ejemplo la cromatografía, etc. La eliminación del ADN residual de la célula huésped puede ser potenciada mediante el tratamiento con nucleasa por ejemplo, con el uso de la Benzonase™ ADNasa [36]. Se prefieren las vacunas que contienen <100 pg de ADN de la célula huésped por 10 µg de hemaglutinina, así como las vacunas que contienen <100 pg de ADN de la célula huésped por 0,25 ml de volumen.

40 Las vacunas que contienen <100 pg de ADN de la célula huésped por 50 µg de hemaglutinina son las predilectas, así como las vacunas que contienen <100 pg de ADN de la célula huésped por ml. de volumen.

45 Las vacunas del invento pueden ser administradas a régimen de una única dosis de inmunización. Alternativamente, pueden ser administradas como el elemento principal de un régimen *prime-boost* (lo que significa que la primera inmunización es seguida de una segunda dosis de antígenos similares a las pocas semanas o meses).

## 50 **Administración a las células de Langerhans**

Las células de Langerhans son células mieloides altamente especializadas que presentan antígenos (APC), ubicadas en la piel, mucosas y los tejidos linfoides. Las células de Langerhans se originan en la médula ósea y migran a la epidermis, donde forman una red ordenada regular que puede alcanzar una densidad de 700 a 800 células por mm², cubriendo hasta el 25% del área total de la superficie de la piel en los seres humanos. Las células son fácilmente reconocibles en imágenes de microscopios electrónicos, ya que contienen orgánulos citoplasmáticos intracelulares característicos, que se asemejan a las raquetas de tenis, conocidos como "gránulos de Langerhans" o "gránulos de Birbeck". Las células de Langerhans son ricas en MHC de Clase II. Pueden activar específicamente las células T auxiliares latentes y así iniciar una respuesta inmune dependiente de las células T primarias. Tras el contacto con un antígeno, la célula puede dejar la epidermis y alcanzar un ganglio linfático a través del sistema linfático. En su trayectoria, la célula pasará por un proceso de maduración que conduce a la presentación del antígeno en la superficie celular. Las células migrantes son sustituidas por un número correspondiente de nuevas células de Langerhans de la médula ósea. En los ganglios linfáticos, las células de Langerhans maduras activan las células T auxiliares que tienen los receptores específicos de antígenos en sus superficies. De esta manera, dirigen la reacción del sistema inmunológico.

65

El invento se refiere principalmente a la administración de un antígeno a las células de Langerhans de la epidermis. La epidermis es la capa externa de la piel y contiene 5 capas, siendo éstas (con movimiento hacia el exterior): estrato basal, estrato espinoso, estrato granuloso, estrato lúcido, y estrato córneo exterior. Las células de Langerhans están situadas principalmente en el estrato espinoso y/o estrato germinativo, debajo del estrato córneo.

La administración a las células de Langerhans puede ser lograda de varias maneras, usando una variedad de dispositivos de administración. La microporación es obtenida mediante el uso de microagujas que abren los poros en el estrato córneo del paciente. Se prefiere la administración en la epidermis, aunque la administración en la dermis (por ejemplo, administración intradérmica) también permite el contacto con las células de Langerhans.

La administración es lograda por medio del uso de dispositivos que crean microporos en el estrato córneo ("microporación"). Tales dispositivos incluyen microestructuras (a veces llamadas microagujas, un término ahora aceptado en la técnica [37-40]) que, cuando son aplicadas a la piel, crean fácilmente microporos en el estrato córneo sin causar sangrado (por ejemplo, el sistema *Microstructured Transdermal System* de 3M, el sistema *Micropyramid*™ de NanoPass, etc.). Las microagujas pueden ser utilizadas individualmente o de manera múltiple (por ejemplo, en una matriz [41]). Las microagujas abren los poros en el estrato córneo y pueden tener diferentes tamaños que varían en longitud desde 25µm a 1mm. Estas son preferentemente lo suficientemente pequeñas como para no penetrar en la dermis y no alcanzar así las terminaciones nerviosas, evitando por lo tanto cualquier sensación de dolor. Las estructuras de las mismas pueden ser sólidas (funcionando como un pretratamiento antes de la aplicación del antígeno), sólidas con el antígeno recubierto directamente en el exterior de las agujas, o huecas para facilitar el transporte de fluidos a través de las agujas y a la epidermis inferior. Pueden ser hechas a partir de materiales incluyendo, aunque no limitados a: silicio, polímeros biodegradables, metales (por ejemplo, acero inoxidable, oro, etc.), y vidrio. Los polímeros biodegradables son seguros incluso si las agujas se rompen mientras son insertadas. Los microporos producidos por estos dispositivos ofrecen una menor resistencia a la difusión del fármaco que la piel normal sin microporos [42], y los sistemas han sido diseñados para mejorar en gran medida (hasta 100.000 veces) la penetración de las macromoléculas a través de la piel [43]. La activación vibratoria puede ser utilizada con el fin de reducir la fuerza de la inserción [44].

Del mismo modo, puede ser utilizado un sistema de disposición de microsaliertes (por ejemplo, el sistema Macroflux™ de Alza). Los salientes pueden tener una longitud de aproximadamente 100-500µm, con 50-500 microsaliertes por cm<sup>2</sup>, sobre un área de 1-2 cm<sup>2</sup> y serán generalmente recubiertos con antígenos. Estos sistemas pueden administrar hasta 80 µg de proteína a una profundidad media de 100 µm, sin salientes más profundos de 300 µm [45]. Las velocidades de administración pueden ser tan altas como 20 µg en 5 segundos. El antígeno puede tener un revestimiento en seco, con o sin un adyuvante.

Pueden ser utilizados sistemas microabrasivos.

La piel puede ser frotada de manera opcional antes de la administración de un compuesto como por ejemplo, usando un papel de lija.

### **Pruebas de inmunogenicidad**

Los métodos para probar la inmunogenicidad de vacunas contra la gripe son bastante conocidos en la técnica. El método implica el siguiente procedimiento: (a) Justo antes de la vacunación, una muestra de 10 ml de sangre venosa es extraída de un paciente, normalmente del brazo, para la valoración de la línea de la base de anticuerpos circulantes anti-HA; (b) Inmediatamente después, un paciente recibe 1 dosis de vacuna que, si se administra en el brazo, se aplica en el brazo opuesto al que se extrae la sangre; (c) Aproximadamente 3 semanas después de la vacunación, se extraerá una muestra de 10 ml de sangre de los pacientes. Los fluidos de las muestras de sangre son separados y almacenados (si es necesario) a -20°C. Los fluidos son analizados para el anticuerpo anti-hemaglutinina contra las cepas relevantes, mediante la inhibición de la hemaglutinación (HI [49]) o la hemólisis radial simple (SRH [50,51]). Los fluidos positivos y negativos, así como las preparaciones referidas pueden ser obtenidos en los laboratorios públicos mencionados. Las valoraciones de los anticuerpos son realizadas por duplicado, y los fluidos de antes y de después de la vacunación se valoran de forma simultánea. El título asignado a cada muestra es la media geométrica de dos determinaciones independientes (pero, para los fines de cálculo, cualquier resultado HI <10 (= no detectable) es expresado como 5 y cualquier resultado negativo SRH es expresado como 4mm<sup>2</sup> en condiciones estándar).

En las pruebas de HI, la seroconversión corresponde a una relación de los títulos de antes y después de la inmunización de  $\geq 40$  y un aumento significativo (por ejemplo al menos 4 veces) del título de anticuerpos. En las pruebas de SRH, la seroconversión corresponde a un área después de la vacunación  $\geq 25\text{mm}^2$ , con al menos un 50% en el área en relación con el área de antes de la vacunación.

Las vacunas preferidas del invento provocan la seroconversión de los pacientes de acuerdo con las pruebas presentadas en la referencia 52.

### **General**

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

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

La palabra "sustancialmente" no excluye "completamente", por ejemplo, una composición que es "sustancialmente libre" de Y puede estar completamente libre de Y. Cuando sea necesario, la palabra "sustancialmente" puede ser omitida de la definición del invento.

10 Más información general sobre las vacunas contra la gripe, incluyendo cepas de células, líneas de células para crecimiento, dosis, combinaciones, formulaciones, etc. puede ser encontrada en los capítulos 17 y 18 de la referencia 53. Más detalles sobre el virus de la gripe, incluyendo detalles de su ciclo de vida durante el crecimiento viral pueden ser encontrados en el capítulo 46 de la referencia 54.

## 15 MODOS DE LLEVAR A CABO EL INVENTO

### *Immunización pediátrica*

20 Una vacuna trivalente se prepara a partir de las cepas del virus de la gripe A / Nueva Caledonia / 20/99 (H1N1), A / Wellington / 1/2004 (H3N2) y B / Shanghai / 361/2002. Estas son las tres cepas prototipo seleccionadas para la temporada de invierno en el hemisferio sur de 2005. La vacuna contiene antígenos de superficie purificados de los tres virus, estandarizados a 2,5 µg de HA por dosis para cada cepa. La vacuna contiene un adyuvante a base de aluminio y ningún conservante. La vacuna es aplicada a las puntas de las agujas de un aparato con una disposición de microsaliertes.

25 Los niños que no han recibido previamente una dosis de la gripe son seleccionados para recibir la inmunización de acuerdo con el invento. Se identifica un área relativamente libre de pelos de la piel en el brazo de un paciente, y el dispositivo de microagujas es aplicado a la piel. En algunos niños, la piel es ligeramente frotada antes de la aplicación del dispositivo. Antes y después de la inmunización, los fluidos fueron analizados tal y como se describe en la referencia 52.

### 30 *Immunización adulta*

Una vacuna monovalente es preparada a partir de una cepa H5N1 recombinada derivada de la cepa A / Hong Kong / 213/2003. La vacuna contiene antígenos de superficie purificados de virus, estandarizados a 2.5µg HA por dosis para cada cepa. La vacuna contiene un adyuvante a base de aluminio y ningún conservante. La vacuna es aplicada a la punta de las agujas de un aparato con una disposición de microsaliertes.

40 Los adultos de 50-60 años de edad que hayan recibido previamente al menos dos dosis de la gripe cada año con la H1N1 usual y las cepas H3N2 son seleccionados para recibir la inmunización según el invento. Se identifica un área relativamente libre de pelos de la piel en el brazo de un paciente, y el dispositivo de microagujas es aplicado a la piel. En algunos pacientes, la piel es ligeramente frotada antes de la aplicación del dispositivo. Antes y después de la inmunización, los fluidos fueron analizados tal y como se describe en la referencia 52.

45 Se entenderá que el invento es descrito anteriormente solamente a modo de ejemplo y pueden ser hechas modificaciones siempre que permanezcan en el ámbito del invento.

50

55

60

65

70

**Reivindicaciones**

- 5 1. Una composición inmunogénica que comprende un antígeno de virus de influenza para usar en un método de inmunización de un paciente contra el virus de influenza que abarca el paso de administrar la composición inmunogénica al paciente donde:  
 (a) el paciente es inmunológicamente naive a la gripe ; y  
 (b) la composición inmonogénica se entrega a las células de Langerhans del paciente por la microporación con microagujas que abren poros en el estrato córneo del paciente, donde el rango de las microagujas va desde las 25 um al 1mm; y
- 10 Donde el antígeno del virus de influenza viene en forma de un virus inactivado o un virosoma o donde el antígeno del virus de influenza se produce en un sistema recombinante o sintético que no implica el crecimiento de virus de influenza.
- 15 2. Una composición inmunogénica que comprende un antígeno de virus de influenza para usar en un método para inmunizar a un paceutne contra un virus de influenza, que comprende el paso de administrar una composición inmunogénica al paciente donde:  
 (a) el paciente es no tratado previamente a al género del virus de influenza y/o subtipo; y  
 (b) la composición inmunogénica es llevada sss a las células de Langerhans del paciente por la microporación con microagujas que abren poros en el estrato córenos del paciente, donde el rango de las microagujan van desde s5 um a 1mm; y
- 20 Donde el antígeno del virus de infleunza viene en forma de un virus inactivado o un virosoma, o donde el antígeno de virus de influenza se produce en un sistema recombinante o sintético que que no implica un crecimiento de virus de influenza.
- 25 3. La composición del punto 1 donde el paciente es un niño de entre 0 y 18 meses.
4. La composición del punto 2 donde el paciente es: (i) un niño de entre 0 meses y 12 años; (ii) un adolescente entre 13 y 19 años; (iii) un adulto joven de entre 20 y 35 años; (iv) un adulto de mediana edad de entre 36-64 años; o (v) un adulto mayor de 65 años o más.
- 30 5. La composición de cualquier punto precedente donde la composición inmunogénica comprende más de un adyuvante.
- 35 6. La composición algún punto precedente, donde la composición inmunogenica comprende 15 ug de HA por cepa de virus de infleunza.
7. La composición de cualquier punto precedente donde la cokmposicion inmunogénica comprende 15ug entre 0,1 y 8ug de HA por cepa de virus influenza.
- 40 8. La composición de una de los puntos 1 a 5 donde la composición inmunogénica tiene un volumen de entre 0,05 y 0,5 ml.
- 45 9. La composición de cualquier punto presente, donde las microagujas estén hechas de silicona, polímeros biodegradables, metal o vidrio.
- 50 10. La composición cualquiera de los puntos 1 a 8 donde el método usa un aparato que crea microponer incluye un ensayo de microproyección.
11. La composición de cualquier punto precedente donde la composición inmunogénica incluye antígenos de por lo menos una cepa de virus de influenza A y/o por lo menos un sss de virus de influenza B.
- 55 12. La cmposición de cualquier punto precedente donde el composición inmunogénica viene en foram de un virus inactivado.
- 60 13. La composición del punto 12, donde la composición inmunogénica es un virus completo, dividido o subunidades virales.
- 65