

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 231**

51 Int. Cl.:

A61K 39/095 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.03.2007** E 11156356 (5)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.03.2018** EP 2357001

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

30 Prioridad:

22.03.2006 US 785234 P

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

29.05.2018

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. (100.0%)
Rue de l'Institut, 89
1330 Rixensart, BE**

72 Inventor/es:

DANZIG, LISA

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 670 231 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Regímenes para inmunización con conjugados meningocócicos

5

Campo técnico

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

10 **Técnica antecedente**

Se han informado vacunas conjugadas para serogrupo C de *N.meningitidis* para uso humano, y se incluyen los productos conocidos como Menjugate™ [1], Meningitec™ y NeisVac-C™. Se han informado, además, mezclas bivalentes de conjugados a partir de serogrupos A+C [2,3] y C+Y [4]. Se conocen, además, mezclas de conjugados a partir de la totalidad de los cuatro serogrupos A, C, W135 e Y (por ejemplo, véase referencias 5-9), lo que incluyen el producto Menactra™ que fue autorizado en 2005. Por ejemplo, la referencia 5 divulga la administración de una primera dosis de una vacuna antimeningocócica conjugada tetravalente a los 12-15 meses y de una segunda, 2 meses después.

Además de los antígenos que se incluyen en una vacuna, el cronograma para administración de dosis resulta un importante aspecto de la inmunización efectiva. Como se mencionó en el capítulo 8 de referencia 10, "la mayoría de las vacunas requieren de la administración de múltiples dosis en una serie primaria para el desarrollo de inmunidad". Además, "la revacunación periódica ("dosis de refuerzo") con ciertas vacunas puede ser necesaria para mantener la inmunidad".

Los cronogramas conocidos para las vacunas antimeningocócicas conjugadas contra el serogrupo C incluyen: una dosis única a los 12 meses de edad; dos dosis a los 2 y 4 meses; tres dosis a los 2, 3 y 4 meses de edad; tres dosis a los 2, 4 y 6 meses de edad; tres dosis a los 3, 5 y 12 meses de edad; tres dosis a los 2, 4 y 12 meses. Se han sugerido cronogramas alternativos [11], que incluyen el potencial de una dosis durante la infancia tardía o el segundo año de vida.

Se han administrado combinaciones de conjugados meningocócicos multivalentes de acuerdo con diversos cronogramas de administración de dosis. Por ejemplo, cronogramas conocidos de dosis única para vacunas antimeningocócicas conjugadas multivalentes incluyen: a las 14 [12] semanas de edad; a los 6 [13] meses de edad; a los 9 [12] meses; entre los 12-16 [14] meses; entre los 2-3 [5,15] años de edad; entre los 2-10 [16, 17, 18] años; entre los 11-18 [18] años; 18-50 [19] años; 18-55 [18] años. La información de prescripción del Menactra™ muestra que se administra en una dosis única a los 11-18 o 18-55 años de edad.

Cronogramas conocidos de 2 dosis para vacunas antimeningocócicas conjugadas multivalentes incluyen: 2 y 6 [13] meses de edad; la primera dosis [12] a las 14 semanas de edad, la segunda dosis a los 9 meses de edad; la primera dosis [5] a los 12-15 meses, la segunda dosis, 2 meses después; la primera dosis [14] a los 12-16 meses, la segunda dosis, 1 mes después; dosis [18] a los 2 años de edad en tiempo cero y luego, 2 meses después; en adultos [2] en tiempo cero y luego, 6 semanas después; en adultos [3] en tiempo cero y luego, 2 meses después. Se ha informado, además, un estudio clínico en el que los pacientes recibieron una primera dosis a los 11-18 años de edad y una segunda dosis, 3 años después.

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

Se ha divulgado un cronograma de 4 dosis a las 6 semanas, 10 semanas, 14 semanas y 9 meses en la referencia 12.

Un objeto de la presente invención consiste en proporcionar cronogramas adicionales y mejorados para la administración de vacunas antimeningocócicas conjugadas multivalentes, en especial, en los niños.

55

Divulgación de la invención

De acuerdo con la invención, las vacunas antimeningocócicas conjugadas multivalentes que comprenden sacáridos capsulares de, al menos, serogrupos meningocócicos C e Y, se administran de acuerdo con un cronograma en el que se administra una primera dosis a un paciente de entre 0 y 12 meses de edad, hasta, pero sin incluir, el primer cumpleaños del paciente, y se administra una segunda dosis a un paciente de entre 12 y 24 meses de edad. Este cronograma brinda una protección temprana en comparación con el cronograma autorizado existente, reduce el coste de inmunización al evitar la necesidad de una tercera vacunación, y la segunda dosis puede actuar como una dosis de refuerzo para proporcionar protección de larga duración.

La invención proporciona, además, el uso de una vacuna antimeningocócica conjugada multivalente que comprende sacáridos capsulares de, al menos, serogrupos meningocócicos C e Y en un procedimiento para inmunizar un

65

paciente que recibió anteriormente una vacuna antimeningocócica conjugada multivalente cuando el paciente tenía entre 0 a 12 meses de edad, hasta, pero sin incluir, el primer cumpleaños del paciente, que comprende: la administración de una vacuna antimeningocócica conjugada multivalente que comprende sacáridos capsulares de, al menos, serogrupos meningocócicos C e Y al paciente de entre 12 y 24 meses de edad.

El cronograma

El cronograma de la invención incluye una primera dosis en el primer año de vida y una segunda dosis en el segundo año de vida. La primera dosis se administra a un paciente de entre 0 a 12 meses de edad, hasta, pero sin incluir, su primer cumpleaños. La segunda dosis se administra a un paciente de 12 a 24 meses de edad, comenzando en el día de su primer cumpleaños, hasta, e incluyendo, su segundo cumpleaños.

Dentro de este cronograma general, se pueden administrar las dos dosis en cualquier momento. De manera general, sin embargo, las dos dosis se administrarán con al menos 4 semanas de diferencia, por ejemplo, ≥ 8 semanas de diferencia, ≥ 2 semanas de diferencia, ≥ 3 semanas de diferencia, ≥ 6 semanas de diferencia PARR14, etc.

Dentro del período de 0-12 meses, la primera dosis no se administra, preferiblemente, antes de aproximadamente las 6 semanas de edad. Los períodos normales para recibir la primera dosis son a los 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses o 6 meses de edad.

Dentro del período de 12-24 meses, la segunda dosis se administra, preferiblemente, en la primera mitad, a saber, entre los 12 y 18 meses, por ejemplo, entre los 12 y 15 meses de edad, o entre los 15 y 18 meses de edad.

El paciente no habrá recibido una vacuna antimeningocócica conjugada antes de la primera dosis en el cronograma. En realizaciones preferidas, el paciente no recibe una vacuna antimeningocócica conjugada entre la primera dosis y la segunda dosis, aunque, en ocasiones, se puede administrar una dosis intermedia. Por ejemplo, el paciente puede recibir 2 o 3 dosis en el período de 0-12 meses, por ejemplo, a los 2,3 y 4 meses de edad, a los 3, 4 y 5 meses de edad, a los 2, 4 y 6 meses, a los 3, 5 y 9 meses, etc.

En algunas realizaciones, el paciente no recibe una dosis adicional, pero en otras realizaciones, puede hacerlo. Preferiblemente, una dosis adicional como tal no se administra hasta una vez transcurrido el segundo cumpleaños del paciente, por ejemplo, hasta después de su quinto cumpleaños, después de su décimo cumpleaños, después de su décimo quinto cumpleaños, después de su décimo séptimo cumpleaños, después de su vigésimo primer cumpleaños, etc. La dosis adicional puede administrarse cuando los niveles [21] de anticuerpo circulante han descendido hasta niveles no detectables.

De manera conveniente, la primera dosis puede administrarse sustancialmente al mismo tiempo que otra vacuna (por ejemplo, durante la misma consulta médica o visita a un profesional de la salud), por ejemplo, al mismo tiempo que una vacuna contra el virus de la hepatitis B, una vacuna contra la difteria, una vacuna contra el tétanos, una vacuna contra la tos ferina (ya sea celular o, preferiblemente, acelular), una vacuna contra el *Haemophilus influenzae* tipo b, una vacuna contra el *Streptococcus pneumoniae*, y/o una vacuna contra la poliomielitis (preferiblemente, en vacuna de poliovirus inactivados). Cada una de estas vacunas opcionales de administración conjunta puede ser una vacuna monovalente o pueden ser parte de una vacuna combinada (por ejemplo, como parte de una vacuna D-T-P).

De manera conveniente, la segunda dosis puede administrarse, sustancialmente, al mismo tiempo que otra vacuna (por ejemplo, durante la misma consulta médica o visita a un profesional de la salud), por ejemplo, al mismo tiempo que una vacuna contra el virus de la hepatitis B, una vacuna contra la difteria, una vacuna contra el tétanos, una vacuna contra la tos ferina (ya sea celular o, preferiblemente, acelular), una vacuna contra el *Haemophilus influenzae* tipo b, una vacuna contra el *Streptococcus pneumoniae*, una vacuna contra la poliomielitis (preferiblemente, en vacuna de poliovirus inactivados), una vacuna contra la influenza, una vacuna contra la varicela, una vacuna contra el sarampión, una vacuna contra las paperas, y/o una vacuna contra la rubéola. Cada una de estas vacunas opcionales de administración conjunta puede ser una vacuna monovalente o pueden ser parte de una vacuna combinada (por ejemplo, como parte de una vacuna M-M-R).

La vacuna

La invención incluye la administración de vacunas antimeningocócicas conjugadas multivalentes que comprenden sacáridos capsulares de, al menos, serogrupos meningocócicos C e Y, a saber, vacunas que, una vez administradas, proporcionan, de manera simultánea, inmunidad contra múltiples diversos serotipos de *N.meningitidis*.

Las vacunas incluyen un sacárido capsular meningocócico conjugado a una proteína portadora.

A modo de referencia, el sacárido capsular del meningococo serogrupo A de es un homopolímero de unión ($\alpha 1 \rightarrow 6$) N-acetil-D-manosamina-1-fosfato, con O-acetilación parcial en las posiciones C3 y C4. Los grupos [22] acetilos

pueden reemplazarse con grupos protectores para impedir la hidrólisis. El sacárido capsular serogrupo C es un homopolímero de unión ($\alpha 2 \rightarrow 9$) ácido siálico (ácido N-acetilneuramínico, o "NeuNAc"). La mayoría de las cepas de los serogrupo C tienen grupos O-acetilos en los C-7 y/o C-8 de los residuos de ácido siálico, pero aproximadamente el 15% de los aislados [23-24] clínicos carecen de estos grupos O-acetilos. La estructura del sacárido se escribe como $\rightarrow 9$ -Neu p NAc 7/8 OAc-($\alpha 2 \rightarrow$). A modo de referencia, el sacárido serogrupo W135 es un polímero de unidades disacárido de ácido siálico-galactosa. De manera similar al sacárido serogrupo C, presenta O-acetilación [25] variable pero en las posiciones 7 y 9 del ácido siálico. La estructura se escribe como: $\rightarrow 4$ -D-Neup5Ac(7/9OAc)- α -(2 \rightarrow 6)-D-Gal- α -(1 \rightarrow). El sacárido serogrupo Y es similar al sacárido serogrupo W135, exceptuando que la unidad de disacárido que se repite incluye glucosa en lugar de galactosa. De manera similar al el serogrupo W135, presenta O-acetilación [25] variable en las posiciones 7 y 9 del ácido siálico. La estructura del serogrupo Y se escribe como: $\rightarrow 4$ -D-Neup5Ac(7/9OAc)- α -(2 \rightarrow 6)-D-Glc- α -(1 \rightarrow).

Los sacáridos que se usan de acuerdo con la invención puede ser O-acetilados según se describe anteriormente (por ejemplo, con el mismo patrón de O-acetilación como se observa en los sacáridos capsulares nativos), o pueden encontrarse des-O-acetilados, parcial o totalmente, en una o más posiciones de los anillos de sacáridos, o pueden ser hiper-O-acetilados con respecto a los sacáridos capsulares nativos. Los sacáridos serogrupo C que se usan con la invención pueden prepararse a partir de cepas de OAc⁺ o OAc⁻. Las cepas preferidas para la producción de conjugados serogrupo C son cepas OAc⁺, preferiblemente serotipo 16, preferiblemente serosubtipo P1.7a, 1. De este modo, se prefieren cepas C:16:P1.7a,1 OAc⁺.

Las fracciones de sacáridos en conjugados pueden comprender sacáridos de longitud completa según se preparan a partir de meningococos, y/o pueden comprender fragmentos de sacáridos de longitud completa. Los sacáridos que se usan se acuerdo con la invención son, preferiblemente, más cortos que los sacáridos capsulares nativos que se observan en la bacteria. De este modo, los sacáridos son preferiblemente despolimerizados, ocurriendo la despolimerización durante o después de la purificación del sacárido pero antes de la conjugación. La despolimerización reduce la longitud de la cadena de los sacáridos. Un procedimiento [5] de despolimerización incluye el uso de peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno se añade a un sacárido (por ejemplo, para dar una concentración final de H₂O₂ del 1%), y la mezcla se incuba luego (por ejemplo a aproximadamente 55 °C) hasta que se alcanza una reducción de longitud de cadena deseada. Otro procedimiento [5] de despolimerización incluye hidrólisis ácida. Se conocen otros procedimientos de despolimerización en el arte. Los sacáridos que se usan para preparar conjugados para su uso de acuerdo con la invención pueden obtenerse mediante uno cualquiera de estos procedimientos de despolimerización. La despolimerización puede usarse para proporcionar una longitud de cadena óptima para inmunogenicidad y/o para reducir la longitud de cadena para manejo físico de los sacáridos. A modo de referencia, los sacáridos pueden tener el siguiente rango de grados de la media de polimerización (Dp): A=10-20; C=12-22; W135=15-25; Y=15-25. En cuanto al peso molecular, en lugar del Dp, los rangos preferidos, para todos los serogrupos, son: <100kDa; 5kDa-75kDa; 7kDa-50kDa; 8kDa-35kDa; 12kDa-25kDa; 15kDa-22kDa.

Las proteínas portadoras normales para su uso en conjugados son toxinas bacterianas, tales como la toxina diftérica [por ejemplo, véase capítulo 13 de ref. 10; refs. 26-29] (o su mutante [30-33] CRM197) y toxina tetánica, de manera general, en forma toxoide (que se obtiene, por ejemplo, mediante tratamiento con un químico desactivante, tal como formol o formaldehído). Otras proteínas portadoras adecuadas incluyen, pero sin limitación, a la proteína [34] de membrana externa de *N.meningitidis*, péptidos [35, 36] sintéticos, proteínas [37, 38] de choque térmico, proteínas [39, 40] de tos ferina, citosinas [41], linfoquinas [41], hormonas [41], factores [41] de crecimiento, proteínas [42] artificiales que comprenden múltiples epítopos de células T CD4⁺ humanas a partir de diversos antígenos que derivan de patógenos, tal como N19 [43], proteína [44-46] D de *H.influenzae*, pneumolisina [47], proteína [48] de superficie de neumococo PspA, proteínas [49] de absorción de hierro, la toxina [50] A o B a partir del *C.difficile*, etc.

Cuatro proteínas portadoras preferidas en especial son el toxoide diftérico (Dt), el toxoide tetánico (Tt), CRM197 y proteína D de *H. influenzae*. Estas proteínas se prefieren debido a que constituyen los principales portadores que se usan actualmente en vacunas pediátricas, por ejemplo, el conjugado de Hib de GSK usa Tt como portador, el producto HibTITER™ usa CRM197, el conjugado neumocócico en Prevenar™ usa CRM197, los productos Menjugate™ y Meningitec™ usan CRM197, y NeisVac-C™ usan Tt.

Los conjugados se mezclan preferiblemente en masas sustancialmente iguales (que se miden como masa de sacárido), por ejemplo, la masa de cada sacárido del serogrupo se encuentra dentro del $\pm 10\%$ de cada uno. Una cantidad normal de antígeno meningocócico por serogrupo en una composición representa entre 1 μ g y 20 μ g, por ejemplo, entre 2 y 10 μ g por serogrupo, o aproximadamente, 4 μ g.

Se prefieren los conjugados con una proporción sacárido:proteína (p/p) de entre 1:15 (a saber, proteína en exceso) y 15:1 (a saber, sacárido en exceso), preferiblemente entre 1:5 y 5:1. Se prefiere la proteína portadora en exceso. Se prefieren los conjugados con una proporción sacárido:proteína de aproximadamente 1:12 o de, aproximadamente, 1:3, en especial cuando el portador es Dt.

Se puede usar cualquier reacción de conjugación adecuada, con cualquier enlazador adecuado, si resulta necesario.

El sacárido se activará o funcionalizará normalmente antes de la conjugación. La activación puede incluir, por ejemplo, reactivos [51, 52, etc.] de cianilación. Otras técnicas adecuadas usan ésteres activos, carbodiimidas, hidrazidas, norborano, ácido p-bitrobenzoico, N-hidroxisuccinimida, S-NHS, EDC, TSTU; (véase, además, la introducción a referencia 53).

Los enlaces mediante un grupo enlazador pueden constituirse usando cualquier procedimiento conocido, por ejemplo, los procedimientos que se describen en las referencias 54 y 55. Un tipo [56, 57, 58] de enlace incluye aminación reductiva del polisacárido, acoplando el grupo amino resultante con un extremo de un grupo enlazador de ácido adípico, y luego, acoplando una proteína al otro extremo del grupo enlazador del ácido adípico. Otros enlazadores incluyen B-propanamida [59], nitrofenil-etilamina [60], haluro de aloacilo [61], enlace [62] glicosídicos, ácido 6-aminocaproico [63], ADH [64], fracciones [65] C₄ a C₁₂ etc. Como una alternativa al uso de un enlazador, se puede usar enlaces directa. Los enlaces directos a una proteína pueden comprender oxidación del polisacárido seguida de aminación reductiva mediante una proteína, según se describe en, por ejemplo, las referencias 66 y 67.

Un procedimiento de conjugación preferido incluye: introducción de grupos amino dentro del sacárido (por ejemplo, mediante el reemplazo de los grupos =O terminales con -NH₂) seguida de derivatización con un diéster adípico (por ejemplo, diéster N-hidroxisuccinimida de ácido adípico) y reacción con una proteína portadora (por ejemplo, CRM197). Se pueden encontrar detalles adicionales de este procedimiento de conjugación en la referencia 6. Los conjugados que se obtienen mediante este procedimiento conforman los conjugados preferidos para su uso de acuerdo con esta invención.

En otro procedimiento de conjugación preferido, se hace reaccionar un sacárido con ácido adípico dihidrazida. Después de un período de reacción, se agrega cianoborohidruro de sodio. El sacárido derivatizado puede prepararse luego por ultrafiltración, por ejemplo. El sacárido derivatizado se mezcla después con la proteína portadora (por ejemplo, un toxoide diftérico), y se agrega carbodiimida. Después de un período de reacción, se puede recuperar el conjugado. Se pueden encontrar detalles adicionales de este procedimiento de conjugación en la referencia 6. Los conjugados que se obtienen mediante este procedimiento conforman los conjugados preferidos para su uso de acuerdo con la invención, por ejemplo, conjugados que comprenden un portador de toxoide diftérico y un enlazador de ácido adípico.

En otro procedimiento de conjugación preferido, un sacárido se derivatiza con un reactivo [52] de cianilación, y acto seguido, se acopla a una proteína (directamente, o después de la introducción de un tiol o grupo nucleofílico hidrazida dentro del portador), sin la necesidad de usar un enlazador. Reactivos de cianilación adecuados incluyen 1- tetrafluoroborato (de 1-ciano-4-dimetilamino piridinio ("CDPA"), p-nitrofenilcianato y tetrafluoroborato de N-cianotrietilamonio ("CTEA"). Se prefiere CDAP, en especial, cuando la proteína D de *H.influenzae* es la portadora común. Se prefiere acople directo.

La administración de un conjugado da, preferiblemente, como resultado un incremento en el título del ensayo bactericida del suero (SBA) del serogrupo relevante de al menos 4-veces, y preferiblemente, de al menos 8-veces, medida con complemento [68] humano. Si se usa complemento de conejo para medir las valoraciones SBA, se prefiere que el aumento de valoración sea de, al menos, 128-veces.

Los conjugados se preparan, preferiblemente, por separado y después se mezclan. De este modo, se prefiere no usar una única proteína para portar múltiples serogrupos (véanse referencias 69 y 70). Después de la mezcla, la concentración de los conjugados mezclados puede ajustarse, por ejemplo, con una sal estéril, regulada por fosfato, libre de pirógenos.

En composiciones de la invención, se prefiere que la cantidad de portador (conjugado o no conjugado) de cada conjugado no sea mayor que 100 µg/ml, por ejemplo, <30 µg/ml de proteína portadora de cada conjugado. Composiciones preferidas incluyen una concentración total de portador (ya sea solamente para los conjugados meningocócicos combinados, o, preferiblemente, para la composición en su totalidad) de menos de 500 µg/ml, por ejemplo, <400 µg/ml, <300 µg/ml, <200 µg/ml, <100 µg/ml, <50 µg/ml, etc.

Las vacunas de la invención pueden no incluir otro antígeno que no sea el de los conjugados meningocócicos. En algunas realizaciones, sin embargo, las vacunas puede incluir antígenos adicionales. Por lo tanto, pueden incluir antígenos adicionales a partir de otros patógenos, en especial, a partir de bacterias y/o virus. Estas pueden incluir otros sacáridos conjugados a partir de organismos no meningocócicos y/o pueden incluir antígenos no sacáridos. Por ejemplo, estas pueden incluir uno o más de los siguientes:

-un toxoide diftérico ("D").

-un toxoide tetánico ("T").

-un antígeno de tos ferina ("P"), que es normalmente acelular ("aP").

-un antígeno de superficie ("HBsAg") del virus de la hepatitis B (HBV).

-un antígeno del virus de la hepatitis A (HAV).

5

-un sacárido capsular conjugado de *Haemophilus influenza* tipo b ("Hib").

-una proteína de serogrupo B de *N.meningitidis*.

10

-una preparación vesicular a partir de serogrupo B de *N.meningitidis*.

-vacuna de poliovirus inactivados (IPV).

15

El cronograma de la invención puede usar vacunas diferentes para la primera y la segunda dosis, por ejemplo, la primera vacuna puede incluir antígenos no meningocócicos mientras que la segunda vacuna puede hacerlo, o la primera vacuna puede incluir un primer set de antígenos no meningocócicos (por ejemplo, DTP) mientras que la segunda vacuna incluye un segundo (diferente) set de antígenos no meningocócicos (por ejemplo, MMR).

20

Además de los componentes antigénicos que se describen anteriormente, las composiciones de la invención incluirán, de manera general, un componente no antigénico. El componente no antigénico puede incluir portadores, adyuvantes, excipientes, reguladores, etc., según se describe en más detalle a continuación. Estos componentes no antigénicos pueden tener diversas fuentes. Por ejemplo, pueden presentarse en uno de los materiales de antígeno o de adyuvante que se usa durante la fabricación o pueden agregarse por separado a partir de estos componentes. Composiciones preferidas de la invención incluyen uno o más portador(es) farmacéuticos y/o excipiente(s). Un análisis más exhaustivo de los portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables se dispone en la referencia 71.

25

Para controlar la tonicidad, se prefiere incluir una sal fisiológica, tal como sal de sodio. Se prefiere cloruro de sodio (NaCl), que puede presentarse en una cantidad entre 1 y 20 mg/ml.

30

Las composiciones tienen, de manera general, una osmolaridad de entre 200 mOsm/kg y 400 mOsm/kg, preferiblemente, entre 240-360 mOsm/kg y caerán, con mayor preferencia, dentro del rango de 290-310 mOsm/kg. Se ha informado con anterioridad que la osmolaridad no tiene un impacto [72] en el dolor que causa la vacunación, pero mantener la osmolaridad dentro de este rango resulta, de todos modos, preferible.

35

Las composiciones de la invención pueden incluir uno o más reguladores. Reguladores normales incluyen: un regulador de fosfato; un regulador Tris; un regulador de borato; un regulador de succinato; un regulador de histidina; o un regulador de citrato. Los reguladores se incluirán normalmente en el rango de 5-20mM.

40

El pH de una composición de la invención será, de manera general, de entre 5,0 y 7,5, y, más normalmente, de entre 5,0 y 6,0 para estabilidad óptima, o de entre 6,0 y 7,0.

Las composiciones de la invención son preferiblemente estériles.

45

Las composiciones de la invención son preferiblemente no pirogénicas, y contienen, por ejemplo, <1 EU (unidad de endotoxina, una medida estándar) por dosis, y preferiblemente, <0,1 EU por dosis.

Las composiciones de la invención son preferiblemente libres de gluten.

50

Cuando se adsorben los antígenos, una composición puede constituir una suspensión con una apariencia turbia. Esta apariencia significa que la contaminación microbiana no se puede ver con facilidad, y, por eso la vacuna contiene preferiblemente un conservante. Esto resulta especialmente importante cuando la vacuna se empaqueta en contenedores de múltiples dosis. Los conservantes preferidos para incluirse son 2-fenoxietanol y tiomersal. Se recomienda, sin embargo, que no se usen conservantes a base de mercurio (por ejemplo, tiomersal), siempre que sea posible. Se prefiere que las composiciones de la invención contengan menos de aproximadamente 25 ng/ml de mercurio.

55

La concentración de una cualquiera de las sales de aluminio en una composición de la invención, expresada en términos de Al^{3+} es, preferiblemente, menor que 5 mg/ml, por ejemplo, ≤ 4 mg/ml, ≤ 3 mg/ml, ≤ 2 mg/ml, ≤ 1 mg/ml, etc. Las composiciones de la invención se administran, preferiblemente, a pacientes en dosis de 0,5 ml. Las referencias a las dosis de 0.5 ml se comprenderán a los fines de incluir varianzas normales, por ejemplo, 0,5 ml+0,05 ml.

60

65

El material residual de los componentes antigénicos individuales puede presentarse en cantidades pequeñas al final de la vacuna que se produce mediante el procedimiento de la invención. Por ejemplo, si se usa formaldehído para preparar los toxoides diftéricos, tetánicos y de tos ferina, la vacuna final puede retener luego cantidades pequeñas de formaldehído (por ejemplo, menos que 10 μ g/ml, preferiblemente <5 μ g/ml). Se pueden haber usado medios o

estabilizadores durante la preparación del poliovirus (por ejemplo, Medium 199) y estos pueden ser realizados para dar como resultado la vacuna final. De manera similar, ácidos libres de amina (por ejemplo, alanina, arginina, aspartato, cisteína y/o cistina, glutamato, glutamina, glicina, histidina, prolina y/o hidroxiprolina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, serina, treonina, triptofano, tirosina y/o valina), vitaminas (por ejemplo, colina, ascorbato, etc.), fosfato de sodio, fosfato monopotásico, calcio, glucosa, sulfato de adenina, rojo de fenol, acetato de sodio, cloruro de potasio, etc, pueden ser retenidos en la vacuna final en cantidades ≤ 100 $\mu\text{g/ml}$, preferiblemente ≤ 10 $\mu\text{g/ml}$, cada uno. Otros componentes a partir de preparaciones de antígenos, tales como neomicina (por ejemplo, sulfato de neomicina, especialmente, de un componente IPV), polimixina B (por ejemplo, sulfato de polimixina B, especialmente, de un componente IPV), etc., pueden presentarse además en cantidades como, por ejemplo, subnanogramos, por dosis.

Un posible componente adicional de la vacuna final que se origina en las preparaciones de antígeno aparece a partir de la purificación menor a la total de los antígenos. Pequeñas cantidades de proteínas de *B.pertussis*, *C.diphtheriae*, *C.tetani* y/o *S. cerevisiae* y/o ADN genómico pueden, por lo tanto, presentarse.

Los conjugados meningocócicos pueden liofilizarse antes del uso de acuerdo con la presente invención. Si se liofilizan, la composición puede incluir un estabilizador tal como manitol. Puede incluir, además, cloruro de sodio.

20 El paciente

La edad de los pacientes que reciben vacunas de la invención se establece mediante el cronograma.

A pesar de que el paciente no habrá recibido una vacuna antimeningocócica conjugada antes de la primera dosis en el cronograma, puede haber recibido otro conjugado no meningocócico y/o puede haber recibido la proteína portadora que se usa en el conjugado meningocócico. Antes de ser expuestas como portadoras, pueden haber sido portadoras en un conjugado no meningocócico (por ejemplo, en un conjugado de Hib) y/o como antígeno en sí mismo (por ejemplo, el toxoide tetánico se usa normalmente como portador para conjugados de Hib, pero se usa, además, como un antígeno para proteger contra el *C.tetani*).

Después de recibir la primera dosis en el cronograma, y antes de la segunda dosis, un paciente se distingue con respecto a una persona de la población general, en cuanto a que el primero ha generado una respuesta inmune contra la primera dosis. Por lo tanto, los pacientes en espera de recibir la segunda dosis por cronograma forman parte de un subgrupo específico e identificable dentro de la población.

Las composiciones de la invención pueden administrarse mediante inyección intramuscular, por ejemplo, dentro del brazo, pierna o glúteo. Cuando se administra otra vacuna en forma conjunta, resulta común inyectar las composiciones en miembros opuestos, por ejemplo, inyectar una en el brazo izquierdo y otra en el brazo derecho.

Cuando las composiciones de la invención incluyen un adyuvante en base a aluminio, la instalación de componentes puede realizarse durante el almacenamiento. La composición debería, por lo tanto, agitarse antes de su administración a un paciente. La composición agitada será, de manera general, una suspensión turbia de color blanco.

45 El paciente es un ser humano.

Empaquetamiento

Las vacunas para su uso según la invención pueden colocarse dentro de contenedores para su uso. Contenedores adecuados incluyen viales y jeringas desechables (preferiblemente, esterilizadas).

Cuando una composición de la invención se empaqueta en viales, estas viales se constituyen, preferiblemente, a partir de un material de vidrio o plástico. El vial se esteriliza, preferiblemente, antes de que se le agregue la composición. Para evitar problemas con pacientes sensibles al látex, los viales se sellan preferiblemente con un tapón libre de látex. El vial puede incluir una dosis única de la vacuna, o puede incluir más de una dosis (un vial "multidosis"), por ejemplo, 10 dosis. Cuando se usa un vial multidosis, cada dosis debería retirarse con una aguja y jeringa estériles bajo condiciones asépticas estrictas, con sumo cuidado para evitar la contaminación de los contenidos del vial. Los viales preferidos se constituyen a partir de vidrio incoloro.

60 Un vial puede tener una tapa (por ejemplo, un sistema Luer lock) que se adapta de manera tal que una jeringa previamente llena puede insertarse dentro de la tapa, los contenidos de la jeringa pueden expulsarse dentro del vial (por ejemplo, para reconstituir material liofilizado en esta), y los contenidos del vial pueden ser retirados de regreso hacia adentro de la jeringa. Una vez que se retira la jeringa del vial, se puede adjuntar luego una aguja y la composición puede administrarse a un paciente. La tapa se ubica preferiblemente dentro de un sello o cubierta, de manera tal que el sello o la cubierta deben retirarse antes de que se pueda acceder al vial.

5 Cuando la composición se empaqueta dentro de la jeringa, la jeringa no tendrá, normalmente, ninguna aguja adjunta, a pesar de que se puede suministrar una aguja por separado con respecto a la jeringa para montaje y uso. Se prefieren agujas seguras. Agujas normales son aquellas de 1-pulgada 23-calibre, 1-pulgada 25-calibre y 5/8-pulgada 25-calibre. Se pueden proporcionar jeringas con etiquetas despegables en las que se pueden imprimir el número de lote y la fecha de vencimiento, para facilitar el mantenimiento del registro. El émbolo en la jeringa tiene preferiblemente un tapón para impedir que el émbolo se retire accidentalmente durante la aspiración. Las jeringas pueden tener una tapa y/o embolo de goma látex. Las jeringas desechables contienen una dosis única de vacuna. La jeringa tendrá, de manera general, una tapa de punta para sellar la punta antes de adjuntarse a una aguja, y la 10 tapa de punta se constituye, preferiblemente de goma de butilo. Si la jeringa y la aguja se empaquetan por separado, la aguja entonces se ajusta preferiblemente con un protector de butilo. Se prefiere goma de butilo de color gris. Las jeringas preferidas son las que se comercializan con la marca "Tip-Lok"™.

15 Cuando se usa un contenedor de vidrio (por ejemplo, una jeringa o un vial), entonces se prefiere usar un contenedor constituido a partir de vidrio de borosilicato antes que vidrio sódico-cálcico.

Si una vacuna se encuentra en su forma liofilizada, entonces será normalmente resuspendida dentro de una forma acuosa antes de su administración.

20 Además de contener vacunas para administración, los kits pueden incluir instrucciones para administrar la vacuna. Las instrucciones se referirán a un cronograma de inmunización que incluye: (a) administrar la primera vacuna a un paciente de entre 0 y 12 meses de edad, hasta, pero sin incluir el primer cumpleaños del paciente; y (b) después administrar la vacuna a un paciente que ha alcanzado entre 12 y 24 meses de edad.

25 Adyuvantes

Las vacunas de la invención pueden incluir un adyuvante. Sin embargo, cuando una vacuna incluye solo conjugados meningocócicos, no se prefiere el uso de adyuvantes. Cuando se usa un adyuvante, puede comprender una o más sales de aluminio, y, en especial, un adyuvante de fosfato de aluminio y/o un adyuvante de hidróxido de aluminio.

30 Los adyuvantes de aluminio actualmente en uso son referidos normalmente como adyuvante de, ya sea "hidróxido de aluminio" o como adyuvantes de "fosfato de aluminio". Estos nombres son convenientes, en realidad, ya que ninguno de ellos describe con precisión el compuesto químico actual que se presenta (por ejemplo, véase capítulo 9 de referencia 73). La invención puede usar cualquiera de las sales de "hidróxido" o "fosfato" que se usan, de manera general, como adyuvantes.

35 Los adyuvantes que se conocen como "hidróxido de aluminio" normalmente son sales de oxihidróxidos de aluminio, que normalmente son, al menos parcialmente, cristalinas. El oxihidróxido de aluminio, que puede representarse mediante la fórmula $\text{AlO}(\text{OH})$, puede distinguirse de otros componentes de aluminio, tales como el hidróxido de aluminio $\text{Al}(\text{OH})_3$, mediante espectroscopia infrarroja (IR), en especial mediante la presencia de una banda de adsorción a 1070 cm^{-1} y un hombro fuerte a $3090\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ (véase capítulo 9 de ref. 73).

40 Los adyuvantes que se conocen como "fosfato de aluminio" normalmente son hidroxifosfatos de aluminio, que además contienen con frecuencia una pequeña cantidad de sulfato. Pueden obtenerse mediante precipitación, y las condiciones de reacción y concentraciones durante la precipitación pueden influenciar el grado de sustitución del fosfato por el hidroxilo en la sal. Los hidroxifosfatos tienen, de manera general, una proporción molar PO_4/Al de entre 0,3 y 0,99. Los hidroxifosfatos pueden distinguirse de AlPO_4 estricto mediante la presencia de grupos hidroxilos. Por ejemplo, una banda de espectro IR a 3164 cm^{-1} (por ejemplo, cuando se calienta a $200\text{ }^\circ\text{C}$), indica la presencia de hidroxilos estructurales (capítulo 9 de ref. 73).

45 La proporción molar $\text{PO}_4/\text{Al}^{3+}$ de un adyuvante de fosfato de aluminio será, de manera general, de entre 0,3 y 1,2, preferiblemente, de entre 0,8 y 1,2, y más preferiblemente, de entre $0,95 \pm 0,1$. El fosfato de aluminio será, de manera general, amorfo, especialmente para sales de hidroxifosfato. Un adyuvante normal es hidroxifosfato de aluminio amorfo con proporción molar PO_4/Al de entre 0,84 y 0,92, incluido en $0,6\text{ mg Al}^{+3}/\text{ml}$. El fosfato de aluminio será, de manera general, una partícula. Los diámetros normales de las partículas oscilan entre el rango de $0,5\text{-}20\text{ }\mu\text{m}$ (por ejemplo, de aproximadamente $5\text{-}10\text{ }\mu\text{m}$) después de cualquier adsorción de antígeno.

50 El PZC del fosfato de aluminio se relaciona de manera inversa con el grado de sustitución de fosfato por hidroxilo, y este grado de sustitución puede variar dependiendo de condiciones de reacción y concentración de reactivos que se usan para preparar la sal mediante precipitación. El PZC se altera también mediante el cambio de concentración de iones de fosfato libres en la solución (más fosfato=más PZC ácido) o mediante el agregado de un regulador tal como un regulador de histidina (que vuelve el PZC más básico). Los fosfatos de aluminio que se usan de acuerdo con la invención tendrán, de manera general, un PZC de entre 4,0 y 7,0, más preferiblemente de entre 5,0 y 6,5, por ejemplo, de aproximadamente 5,7.

65 Una solución de fosfato de aluminio que se usa para preparar una composición de la invención puede contener un regulador (por ejemplo, un fosfato o una histidina o un regulador Tris), pero esto no siempre resulta necesario. La

5 solución de fosfato de aluminio es, preferiblemente, estéril y libre de pirógenos. La solución de fosfato de aluminio puede incluir iones de fosfato libre acuosos, por ejemplo, presentes a una concentración de entre 1,0 y 20 mM, preferiblemente de entre 5 y 15 mM, y más preferiblemente, de aproximadamente 10 mM. La solución de fosfato de aluminio puede comprender, además, cloruro de sodio. La concentración de cloruro de sodio oscila, preferentemente, en el rango de 0,1 a 100 mg/ml (por ejemplo, 0,5-50 mg/ml, 1-20 mg/ml, 2-10 mg/ml) y alcanza, más preferiblemente, aproximadamente 3 ± 1 mg/ml. La presencia de NaCl facilita la medición correcta de pH antes de la adsorción de antígenos.

10 Una mezcla de ambos adyuvantes de hidróxido de aluminio con un adyuvante de fosfato de aluminio puede usarse también. Si se usa, puede existir mayor cantidad de fosfato de aluminio con respecto al hidróxido, por ejemplo, una proporción en peso de al menos 2:1, por ejemplo, $\geq 5:1$, $\geq 6:1$, $\geq 7:1$, $\geq 8:1$, $\geq 9:1$, etc.

General

15 El término "comprende" abarca "incluye" así como además, "consiste de", por ejemplo, una composición "que comprende" X puede consistir, de manera exclusiva, de X o puede incluir algo adicional, por ejemplo, X + Y.

20 La palabra "sustancialmente" no excluye "completamente", por ejemplo, una composición que es "sustancialmente libre" de Y puede ser completamente libre de Y. Si es necesario, la palabra "sustancialmente" puede omitirse de la definición de la invención.

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

25 A menos que se indique lo contrario, un procedimiento que comprende una etapa de mezcla de dos o más componentes no requiere ningún orden de mezcla específico. Por lo tanto, los componentes pueden mezclarse en cualquier orden. Cuando existen tres componentes, entonces dos componentes pueden combinarse entre sí, y la combinación puede combinarse después con el tercer componente, etc.

30 Cuando se describe un antígeno como "adsorbido" por un adyuvante, se prefiere que se adsorba, al menos, el 50% (en peso) de este antígeno, por ejemplo, el 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% o más. Se prefiere que el toxoide diftérico y el toxoide tetánico se adsorban ambos por completo, a saber, que ninguno de ellos se detecte en el sobrenadante. La adsorción total de HBsAg es preferible, a su vez.

35 Las cantidades de conjugados se dan, de manera general, en términos de masa de sacáridos (a saber, la dosis del conjugado (portador + sacárido) como un todo es mayor que la dosis indicada) para evitar la variación debido a la elección del portador.

40 Cuando el material animal (y, especialmente, de bovino) se usa en el cultivo de células, estas deberían obtenerse a partir de fuentes que son libres de encefalopatías espongiiformes transmisibles (TSEs), y, en especial, libres de encefalopatías espongiiformes bovinas (BSE).

Modos de realizar la invención

45 La inmunogenicidad, seguridad, tolerancia y la capacidad de imprimirse en la memoria de una vacuna antimeningocócica conjugada se investigan en un estudio al azar, controlado, de etiqueta abierta, multicentro. Los infantes se separaron en tres grupos para recibir una vacuna conjugada tetravalente A-C-W135-Y sin adyuvante como se muestra a continuación, siendo el cronograma del grupo 1 una realización de la invención:

50 1: primera dosis a aproximadamente los 6 meses, luego una segunda dosis a aproximadamente los 12 meses (en o después de la fecha de cumpleaños).

2: dosis única a aproximadamente los 12 meses (en o después de la fecha de cumpleaños).

55 3. dosis de monovalente MenC a los 12 meses, después tetravalente a los 18 meses.

Los conjugados meningocócicos se administraron al mismo tiempo que otras vacunas pediátricas de rutina, y se tomaron ambas muestras de sangre para análisis serológico al mismo tiempo de vacunación y 1 mes después:

	Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4
Grupo 1	6 meses	7 meses	12 meses	13 meses
	B, <u>M4</u> , PC7, 5	B	B, <u>M4</u> , PC7	B, 4V

60

(continuación)

Grupo 2	6 meses	7 meses	12 meses	13 meses
	B, PC7, 5	B	B, <u>M4</u> , PC7	B, 4V
Grupo 3	12 meses	13 meses	18 meses	19 meses
	B, M1, PC7	B, 4V	B, <u>M4</u> , 5	B
Referencia: B= sangre tomada para serología; 5= D-T-Pa-Hib-IPV; PC7= conjugado 7-valente neumocócico; 4V= MMR+V; M4= <u>conjugado 4-valente Men-A-C-W135-Y</u> ; M1= conjugado Men-C				

5 La inmunogenicidad se analiza mediante evaluación de las respuestas de anticuerpos séricos por medio de la medición de títulos de anticuerpos antibacterianos.

10 Para muestras de sangre tomadas en las 2 primeras visitas, el título de anticuerpo antibacteriano en la visita 2, que se expresa como una proporción en comparación con la visita 1, fue la siguiente para cada grupo:

	A	C	W135	Y
Grupo 1	1,5	11	2,8	1,8
Grupo 2	1,0	1	1,0	1,0
Grupo 3	1,0	20	1,0	1,0

15 Se comprenderá que la invención se ha descrito a modo de ejemplo solamente, y que las modificaciones pueden realizarse mientras se permanezca dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Referencias (los contenidos de las cuales se incorporan al presente documento a modo de referencia)

20 [1] Jones (2001) Curr Opin Investig Drugs 2:47-49.

[2] Costantino et al. (1992) Vaccine 10:691-8.

25 [3] Lieberman et al. (1996) JAMA 275:1499-503.

[4] WO02/080965.

[5] WO02/058737.

30 [6] WO03/007985.

[7] Rennels et al. (2002) Pediatr Infect Dis J 21:978-979.

35 [8] Keyserling et al. (2005) Arch Pediatr Adolesc Med 159(10):907-13.

[9] Campbell et al. (2002) J Infect Dis 186:1848-1851.

[10] Vaccines. (eds. Plotkin y Orenstein). 4th edition, 2004, ISBN: 0-7216-9688-0.

40 [11] Trotter et al. (2004) Lancet 364:365-7.

[12] WO2005/000345.

45 [13] Twumasi et al. (1995) J Infect Dis 171:632-8.

[14] WO2005/105140.

[15] Granoff et al. (2005) Pediatr Infect Dis J 24:132-6.

50 [16] Granoff y Harris (2004) Pediatr Infect Dis J 23:490-7.

- [17] Granoff et al. (2005) *Vaccine* 23:4307-14.
 [18] WO2004/103400.
- 5 [19] Anderson et al. (1994) *Infect Immun* 62:3391-5.
 [20] WO02/00249.
- 10 [21] WO98/58670.
 [22] WO03/080678.
- 15 [23] Glode et al. (1979) *J Infect Dis* 139:52-56.
 [24] WO94/05325; US patent 5,425,946.
 [25] WO2005/033148.
- 20 [26] US patent 4,709,017.
 [27] WO93/25210.
- 25 [28] US patent 5,917,017.
 [29] WO00/48638.
- [30] Del Guidice et al. (1998) *Molecular Aspects of Medicine* 19:1-70.
- 30 [31] Anonymous (Jan 2002) *Research Disclosure*, 453077.
 [32] Anderson (1983) *Infect Immun* 39(1):233-238.
- 35 [33] Anderson et al. (1985) *J Clin Invest* 76(1):52-59.
 [34] EP-A-0372501.
 [35] EP-A-0378881.
- 40 [36] EP-A-0427347.
 [37] WO93/17712.
- 45 [38] WO94/03208.
 [39] WO98/58668.
 [40] EP-A-0471177.
- 50 [41] WO91/01146.
 [42] Falugi et al. (2001) *Eur J Immunol* 31:3816-3824.
- 55 [43] Baraldo et al. (2004) *Infect Immun* 72(8):4884-7.
 [44] EP-A-0594610.
- [45] Ruan et al. (1990) *J Immunol* 145:3379-3384.
- 60 [46] WO00/56360.
 [47] Kuo et al. (1995) *Infect Immun* 63:2706-13.
- 65 [48] WO02/091998.
 [49] WO01/72337.

- [50] WO00/61761.
- 5 [51] Lees et al. (1996) *Vaccine* 14:190-198.
- [52] WO95/08348.
- [53] WO98/42721.
- 10 [54] US patent 4,882,317.
- [55] US patent 4,695,624.
- [56] European patent 0477508.
- 15 [57] Porro et al. (1985) *Mol Immunol* 22:907-919.
- [58] EP-A-0208375.
- 20 [59] WO00/10599.
- [60] Gevert et al. *Med. Microbiol. Immunol*, 165 : 171-288 (1979).
- [61] US patent 4,057,685.
- 25 [62] US patents 4,673,574; 4,761,283; 4,808,700.
- [63] US patent 4,459,286.
- 30 [64] US patent 4,965,338.
- [65] US patent 4,663,160.
- [66] US patent 4,761,283.
- 35 [67] US patent 4,356,170.
- [68] W.H.O. *Tech. Rep. Ser.* 594:51, 1976.
- 40 [69] WO99/42130.
- [70] US patent 4,711,779.
- [71] Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. 20th ed. ISBN: 0683306472.
- 45 [72] Nony et al. (2001) *Vaccine* 27:3645-51.
- [73] *Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach* (eds. Powell y Newman) Plenum Press 1995 (ISBN 0-306-44867-X).
- 50

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una vacuna antimeningocócica conjugada multivalente que comprende sacáridos capsulares de, al menos, serogrupos C e Y meningocócicos para su uso en un procedimiento para inmunizar a un paciente en la que la vacuna se administra al paciente (a) cuando el paciente tiene entre 0 y 12 meses de edad, hasta, pero sin incluir, el primer cumpleaños del paciente, y (b) cuando el paciente tiene entre 12 y 24 meses de edad.
- 10 2. Una vacuna antimeningocócica conjugada multivalente que comprende sacáridos capsulares de, al menos, serogrupos C e Y meningocócicos para su uso en un procedimiento para inmunizar a un paciente en la que la vacuna se administra al paciente que tiene entre 12 y 24 meses de edad y que ha recibido anteriormente una vacuna antimeningocócica conjugada multivalente cuando el paciente tenía entre 0 y 12 meses de edad, hasta, pero sin incluir, el primer cumpleaños del paciente.
- 15 3. La vacuna para su uso según la reivindicación 1 o 2, en la que se administran una dosis en el período entre los 0-12 meses y una dosis en el período entre los 12-24 meses con ≥ 6 meses de diferencia.
- 20 4. La vacuna para su uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que una dosis en el período de 0-12 meses se administra a los 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses o 6 meses de edad.
- 25 5. La vacuna para su uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que una dosis en el período de 12-24 meses se administra entre los 12-15 meses de edad o entre los 15-18 meses de edad.
- 30 6. La vacuna para su uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que una dosis en el período de 0-12 meses se administra al mismo tiempo que una vacuna contra el virus de la hepatitis B, una vacuna contra la difteria, una vacuna contra el tétanos, una vacuna contra la tos ferina, una vacuna contra el *Haemophilus influenzae* tipo b, una vacuna contra el *Streptococcus pneumoniae*, y/o una vacuna contra la poliomielitis.
- 35 7. La vacuna para su uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que una dosis en el período de 12-24 meses se administra al mismo tiempo que una vacuna contra el virus de la hepatitis B, una vacuna contra la difteria, una vacuna contra el tétanos, una vacuna contra la tos ferina, una vacuna contra el *Haemophilus influenzae* tipo b, una vacuna contra el *Streptococcus pneumoniae*, una vacuna contra la poliomielitis, una vacuna contra la influenza, una vacuna contra la varicela, una vacuna contra el sarampión, una vacuna contra las paperas, y/o una vacuna contra la rubéola.
- 40 8. La vacuna para su uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la vacuna antimeningocócica conjugada multivalente tiene una proteína portadora seleccionada a partir del grupo que consiste de un toxoide diftérico, un toxoide tetánico y CRM197.
- 45 9. La vacuna para su uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la vacuna antimeningocócica conjugada multivalente no tiene adyuvante.
- 50 10. La vacuna para su uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que los sacáridos capsulares son fragmentos.
11. La vacuna para su uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que los conjugados están presentes en masas iguales (medidas como masa de sacárido) o está presente una dosis doble de serogrupo A
12. La vacuna para su uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que los sacáridos capsulares se conjugan mediante un enlazador.
13. La vacuna para su uso según la reivindicación 12, en la que los sacáridos capsulares se activaron con un reactivo de cianilación con anterioridad a la conjugación.