



13 J



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

Organizacion y
Digitalización CSA Ltda

09-135810

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO "VACUNA"

61. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 39/116

71. SOLICITANTE GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.

DOMICILIO RIXENSART, BÉLGICA

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA LLOREDA RICAURTE
T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C. 27 NOV 2009

(FORMA P 10)

Ceuna, Nipasa Gredat
En 02-12-2009

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-135810- -00000-0000

Fecha: 2009-11-27 17:18:59 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 226

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

①

SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención

☐ Patente de Modelo de Utilidad

☒ Capítulo I.

☐ Capítulo II.

②

SOLICITANTE (71)

Nombre: **GLAXOSMITHKLINE
BIOLOGICALS S.A**

Dirección: Rue de l'Institut 89, B-1330
Rixensart, Bélgica.

Nacionalidad o Domicilio: Rixensart,
Bélgica

Lugar de Constitución: Bélgica

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º,
Bogotá, Colombia

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 39.690.713 TP 53.215

④

INVENTOR(ES) (72)

Nombre: POOLMAN, Jan.

Dirección: GlaxoSmithKline Biologicals s.a., rue de l'Institut 89, B-1330
Rixensart, Bélgica.

Nacionalidad o Domicilio: Bélgica.

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2008/055383

Fecha: 30-04-08

Publicación Internacional No. WO 2008/135514 A1

Fecha: 13-11-08

⑥

Título (54)

"VACUNA" (70) 225

⑦

Clasificación Internacional (51) A61K 39/116

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

GB

02-05-07

0708522.8

GB

28-06-07

0712658.4

GB

05-02-08

0802108.1

⑨

Comprobante de Pago No. 09-77,258

Fecha: 13-11-09

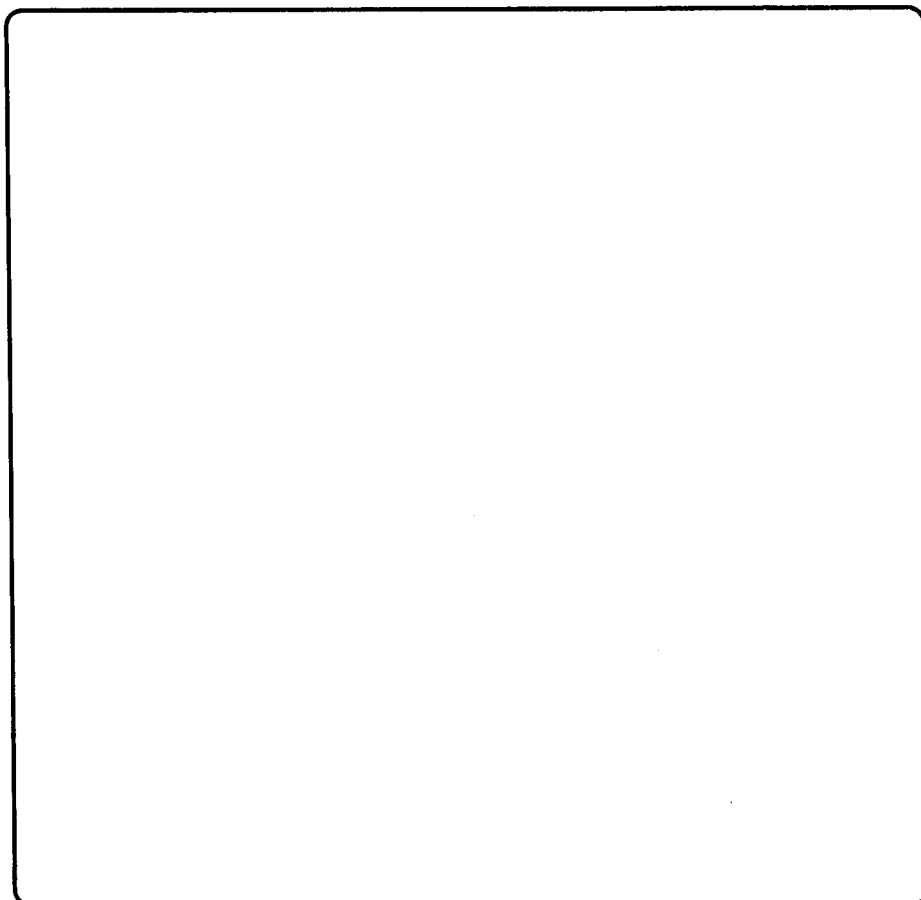
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Documento de Representación Legal.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Reporte de búsqueda internacional, publicación y opinión escrita.

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA: 

C.C. 39.690.713

T.P. 53.215

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 77,258
FECHA : OCTUBRE 13 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-135810- -00000-0000

Fecha: 2009-11-27 17:18:59 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 226

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	RECIBO DE CAJA			76955	13/10/2009	8,133,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	540,000.00
		TOTAL :	\$ 540,000.00

SON: QUINIENTOS CUARENTA MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores **ALICIA LLOREDA** y/o **GUSTAVO TAMAYO** y/o **IGNACIO SANTAMARIA** y/o **ENRIQUE ALVAREZ** para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se está presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

3

TRADUCCION OFICIAL No. 2004-09-09-466
DE LAS PARTES PERTINENTES DE UN DOCUMENTO
PRESENTADO EN INGLES

PODER

Legalización de un Poder de Representación Legal, documento escrito en inglés y en español.

Certificado Notarial (Sociedad) documento también escrito en inglés y en español.

Notarización, documento escrito en español.

APOSTILLA

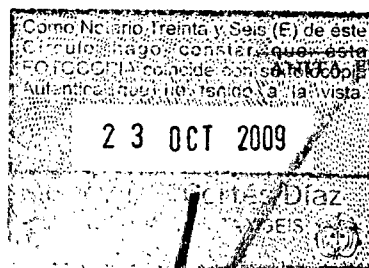
(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte

1. País: Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte
Este documento público
2. ha sido firmado James Kerr Milligan
3. actuando como Notario Público
4. lleva el sello/estampilla de dicho Notario Publico

CERTIFICADO

5. en Londres
6. el 01 de septiembre de 2004
7. por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Exteriores y del Commonwealth
8. Número: **G 749037**
9. Sello/Estampilla:
10. Firma: (ilegible)



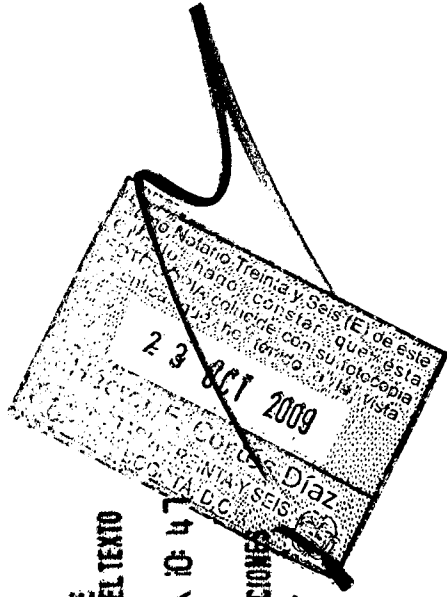
MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

260567
Anita Escobar
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 SET 10 A 10-47

UES
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.



TRADUCCION OFICIAL No. 2004-09-09-466
DE LAS PARTES PERTINENTES DE UN DOCUMENTO
PRESENTADO EN INGLES

PODER

Legalización de un Poder de Representación Legal, documento escrito en inglés y en español.

Certificado Notarial (Sociedad) documento también escrito en inglés y en español.

Notarización, documento escrito en español.

APOSTILLA

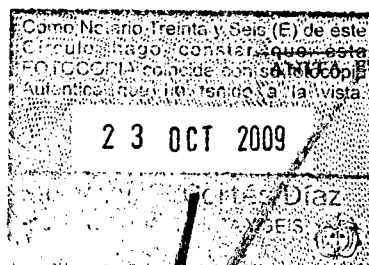
(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte

1. País: Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte
Este documento público
2. ha sido firmado James Kerr Milligan
3. actuando como Notario Público
4. lleva el sello/estampilla de dicho Notario Publico

CERTIFICADO

5. en Londres
6. el 01 de septiembre de 2004
7. por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Exteriores y del Commonwealth
8. Número: **G 749037**
9. Sello/Estampilla:
10. Firma: (ilegible)



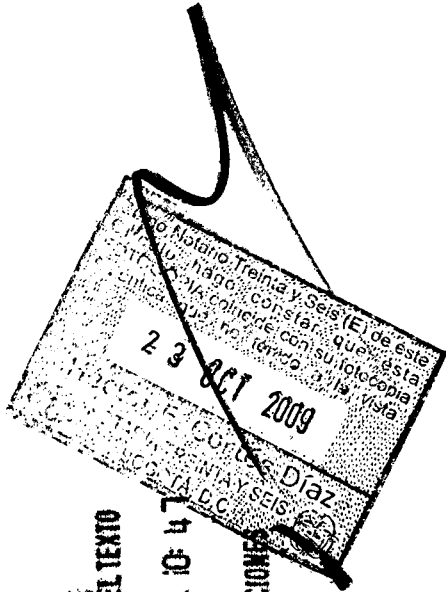
MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

260567
Anita Esobar
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 SET 10 A 10:47

ues
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

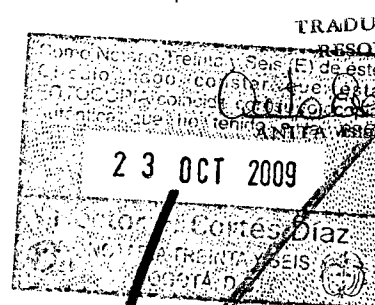


Sello de la Oficina de Asuntos
Exteriores y del Commonwealth

W. Glass
Por el Secretario de Estado

Si este documento se va a usar en un país que no es parte de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961, debe presentarse a la sección consular de la misión que representa a ese país. Una apostilla o certificado de legalización únicamente confirma que la firma, sello o estampilla sobre el documento es autentica. No significa que los contenidos del documento sean correctos o que la Oficina de Asuntos Exteriores y del Commonwealth apruebe los contenidos.

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 9 de septiembre de 2004, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.



Yo, el infrascrito, **JAMES KERR MILLIGAN**, Notario Público de la Ciudad de Londres, Inglaterra, por la Autoridad Real debidamente admitido y juramentado,

C E R T I F I C O:

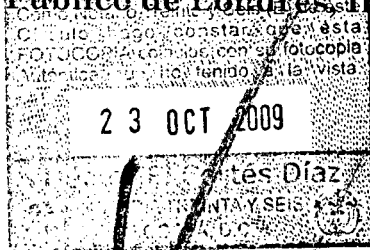
QUE es auténtica la firma suscrita al pie del adjunto Poder, por ser del puño y letra del Señor Don **MARCUS JONATHAN WILLIAM DALTON**, cuya identidad me consta, Apoderado de la Sociedad denominada "**GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**" (anteriormente denominada "**Smithkline Beecham Biologicals s.a.**"), Sociedad legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de Bélgica, con domicilio social en Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart, Bélgica;

QUE el citado Señor Don **MARCUS JONATHAN WILLIAM DALTON** está debida y suficientemente autorizado para firmar documentos de esta clase, en virtud del Poder otorgado en su favor por la referida Sociedad fechado el 12 de junio de 2002, cuyo original he tenido a la vista.

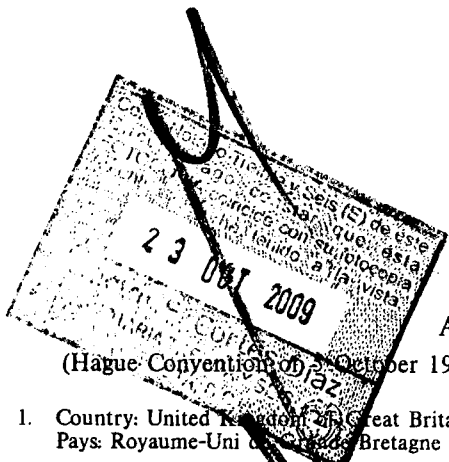
Y QUE los objetos para los cuales se otorgó dicho Poder se encuentran dentro de los objetos o actividades de la citada Sociedad, de acuerdo con la Escritura Constitutiva y los Estatutos Sociales, los cuales he tenido a la vista.

Y PARA QUE CONSTE y obre los efectos conducentes expido la presente que firmo y sello en Londres, el día de hoy primero de septiembre del año dos mil cuatro.

JAMES KERR MILLIGAN
Notario Público de Londres, Inglaterra



SCANNER
NOTARIES



APOSTILLE

(Hague Convention of 5 October 1961/Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document/Le présent acte public

2. has been signed by James Keef Milligan
a été signé par
3. acting in the capacity of Notary Public
agissant en qualité de
4. bears the seal/stamp of Notary Public
est revêtu du sceau/timbre de

Certified/Attesté

5. at London/à Londres 6. the/le 01 SEP 2004
7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs/
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

8. Number/sous No G 749037

9. Stamp:
timbre:



10. Signature: W GLASS

W Glass

For the Secretary of State/Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is
not party to the Hague Convention of 5 October 1961,
it should be presented to the consular section of the
mission representing that country.

Los abajo firmados, **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de Bélgica.

con domicilio en **rue de l'Institut 89,
B-1330 Rixensart,
Bélgica**

nombramos por el presente a **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

The undersigned, **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, a corporation organized and existing under the laws of Belgium.

domiciled at **rue de l'Institut 89,
B-1330 Rixensart,
Belgium**

hereby appoint, **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

Doctors **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

31 AUG 2004

Given and signed this

Marcus Jonathan William DALTON
Attorney and Authorised Official

NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE

JOSE CORTES DIAZ
ABOGADO
CALLE TRINIDAD 518
BOGOTÁ D.C.

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Bélgica

{ss

Hoy de de 200 , compareció , a quien conozco y de quien me consta que firmó el anterior documento, y quien debidamente juramentado declaró y dijo que él es de **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, la compañía nombrada en el documento que antecede, una sociedad debidamente organizada y existente conforme a las leyes de **Bélgica**, domiciliada en la ciudad de **Rixensart, Bélgica**, legalmente constituida para un período de duración que aún no ha terminado, que ejerce su objeto social; conforme a las leyes de

que el declarante está autorizado por dicha Compañía para conferir este poder; que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y en representación de la expresada Compañía, es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento está comprendido dentro del de la sociedad. El suscrito Notario ha visto los Estatutos de incorporación firmados en con fecha , y certifica que de conformidad con la legislación de dicho País, la anterior declaración juramentada es prueba suficiente de que los hechos sobre que ella versa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

Notary Public (Notario Público).

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

Belgium

{ss

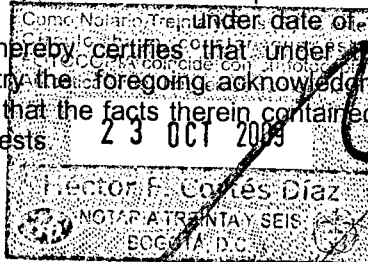
On this day of , 200 , personally came to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument, who being by me duly sworn did depose and say that he is the

of **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, the company named within, a Corporation organized and existing under the laws of the **Belgium**, domiciled at the City of **Rixensart, Belgium**, legally constituted for a period of tenure not yet expired, which exercises its corporate purposes according to the laws of

, that the deponent is authorized by said Company to confer this power of attorney; that the seal affixed hereunto by the deponent in the name and on behalf of said Corporation is the corporate seal thereof; and that the purpose for which this instrument is granted is included within the corporate purposes of the Company.

The undersigned Notary Public has seen the articles of Incorporation of said Corporation executed at

and hereby certifies that under the laws of said Country the foregoing acknowledgment is sufficient proof that the facts therein contained are true, which he attests. 23 OCT 2009



 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) No. de solicitud:		(51) Int Cl: A61K 39/116	
(22) Fecha de solicitud: 27-11-09		(71) Solicitante(s): GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	0708522.8	02-05-07	GB
	0712658.4	28-06-07	GB
	0802108.1	05-02-08	GB
		(72) Inventor(es): POOLMAN, Jan.	
		(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE	
(85)	Fecha límite inicio fase nacional: 02-12-09		(87) Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 13-11-08
	Fecha de presentación de la solicitud: 30-04-08		No. publicación: WO 2008/135514 A1
	No. de solicitud: PCT/EP2008/055383		
(54) Título: "VACUNA "			

Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 1.-

Un kit que comprende al menos nueve conjugados de sacáridos, en el que entre dos y siete conjugados de sacáridos inclusive están conjugados con la proteína transportadora CRM, siendo adecuado dicho kit para usar en un calendario de inmunización primaria, comprendiendo dicho kit:

- un primer envase que comprende
 - a) un conjugado de sacáridos de Hib en presencia de CRM, DT o cualquier otro derivado de DT, pero que no está conjugado con la CRM, DT o cualquier otro derivado de DT;
 - b) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos conjugado con CRM; y
 - c) opcionalmente al menos otro conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,
- y un segundo envase que comprende
 - d) al menos un conjugado de sacáridos conjugado con CRM;
 - e) opcionalmente al menos otro conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,
- y opcionalmente un tercer envase que opcionalmente comprende al menos un conjugado de sacáridos, en el que
 - f) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos está conjugado con CRM;
 - g) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

PATENTE DE INVENCION ____ PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____

(21) No. de solicitud:

(22) Fecha de solicitud: 27-11-09

(51) Clasificación Internacional: A61K 39/116

(71) Solicitante(s): **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**

(72) Inventor(es): POOLMAN, Jan.

(74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	0708522.8	02-05-07	GB
	0712658.4	28-06-07	GB
	0802108.1	05-02-08	GB

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 02-12-09

(87) Publicación internacional

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha: 13-11-08

Fecha de presentación de la solicitud: 30-04-08

N° publicación: **WO 2008/135514 A1**

No. de solicitud: **PCT/EP2008/055383**

(54) Título:

"VACUNA "



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO TEMÁTICO

PATENTE DE INVENCION ____ PCT X MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____

(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 27-11-09

(51) Clasificación Internacional: A61K 39/116

(71) Solicitante(s): **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**

(72) Inventor(es): POOLMAN, Jan.

(74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	0708522.8	02-05-07	GB
	0712658.4	28-06-07	GB
	0802108.1	05-02-08	GB

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 02-12-09

(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT

Fecha de presentación de la solicitud: 30-04-08

No. de solicitud: **PCT/EP2008/055383**

(87) Publicación internacional:

Fecha: 13-11-08

No.Publicación: **WO 2008/135514 A1**

FIGURA CARACTERISTICA

6 x 6 cm

(54) Título: **"VACUNA "**

(57) Resumen:

Reivindicación número 1.

Un kit que comprende al menos nueve conjugados de sacáridos, en el que entre dos y siete conjugados de sacáridos inclusive están conjugados con la proteína transportadora CRM, siendo adecuado dicho kit para usar en un calendario de inmunización primaria, comprendiendo dicho kit:

un primer envase que comprende

a) un conjugado de sacáridos de Hib en presencia de CRM, DT o cualquier otro derivado de DT, pero que no está conjugado con la CRM, DT o cualquier otro derivado de DT;

b) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos conjugado con CRM; y

c) opcionalmente al menos otro conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT, y un segundo envase que comprende

d) al menos un conjugado de sacáridos conjugado con CRM;

e) opcionalmente al menos otro conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,

y opcionalmente un tercer envase que opcionalmente comprende al menos un conjugado de sacáridos, en el que

f) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos está conjugado con CRM;

g) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2008/055383

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/116 A61P31/04		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2007/026249 A (NOVARTIS VACCINES & DIAGNOSTIC [DE]; BORKOWSKI ASTRID [DE]) 8 March 2007 (2007-03-08) page 14, paragraph 5 pages 30-34	1-210
Y	VAN DEN DOBBELSTEEN ET AL: "Immunogenicity of a combination vaccine containing pneumococcal conjugates and meningococcal PorA OMVs" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 25, no. 13, 13 March 2007 (2007-03-13), pages 2491-2496, XP005919806 ISSN: 0264-410X the whole document	1-210
-/--		
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 September 2008		Date of mailing of the international search report 30/09/2008
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Domingues, Helena

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2008/055383

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2006/110381 A (WYETH CORP [US]; HAUSDORFF WILLIAM P [BE]; SIBER GEORGE RAINER [US]; P) 19 October 2006 (2006-10-19) the whole document	1-210
Y	SOUTHERN ET AL: "Immunogenicity of one, two or three doses of a meningococcal C conjugate vaccine conjugated to tetanus toxoid, given as a three-dose primary vaccination course in UK infants at 2, 3 and 4 months of age with acellular pertussis-containing DTP/Hib vaccine" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 24, no. 2, 12 January 2006 (2006-01-12), pages 215-219, XP005204124 ISSN: 0264-410X the whole document	1-210
Y	SCHEIFELE ET AL: "Assessment of the compatibility of co-administered 7-valent pneumococcal conjugate, DTaP/IPV/PRP-T Hib and hepatitis B vaccines in infants 2-7 months of age" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 24, no. 12, 15 March 2006 (2006-03-15), pages 2057-2064, XP005318190 ISSN: 0264-410X page 2062	1-210
Y	BELLONI CESARE ET AL: "Immunogenicity of a three-component acellular pertussis vaccine administered at birth." PEDIATRICS MAY 2003, vol. 111, no. 5 Pt 1, May 2003 (2003-05), pages 1042-1045, XP002494481 ISSN: 1098-4275 the whole document	1-210
Y	RODUIT CAROLINE ET AL: "Immunogenicity and protective efficacy of neonatal vaccination against Bordetella pertussis in a murine model: Evidence for early control of pertussis" INFECTION AND IMMUNITY, vol. 70, no. 7, July 2002 (2002-07), pages 3521-3528, XP002494482 ISSN: 0019-9567 the whole document	1-210

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2008/055383

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SCHMITT HEINZ-J ET AL: "Immunogenicity, reactogenicity; and immune memory after primary vaccination with a novel Haemophilus influenzae-Neisseria meningitidis serogroup C conjugate vaccine" CLINICAL AND VACCINE IMMUNOLOGY, vol. 14, no. 4, April 2007 (2007-04), pages 426-434, XP002494483 ISSN: 1556-6811 pages 430,433	1-210
Y	TEJEDOR JUAN C ET AL: "IMMUNOGENICITY AND REACTOGENICITY OF PRIMARY IMMUNIZATION WITH A HEXAVALENT DIPHTHERIA-TETANUS-ACELLULAR PERTUSSIS-HEPATITIS B-INACTIVATED POLIO-HAEMOPHILUS INFLUENZAE TYPE B VACCINE COADMINISTERED WITH TWO DOSES OF A MENINGOCOCCAL C-TETANUS TOXOID CONJU" PEDIATRIC INFECTIOUS DISEASE JOURNAL, WILLIAMS & WILKINS, BALTIMORE, MD, US, vol. 25, no. 8, 1 August 2006 (2006-08-01), pages 713-720, XP009081395 ISSN: 0891-3668 the whole document	1-210
Y	FATTOM A ET AL: "Epitopic overload at the site of injection may result in suppression of the immune response to combined capsular polysaccharide conjugate vaccines" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC, GUILDFORD, GB, vol. 17, no. 2, 1 January 1999 (1999-01-01), pages 126-133, XP004139967 ISSN: 0264-410X the whole document	210
Y	WO 03/051392 A (GLAXOSMITHKLINE BIOLOG SA [BE]; LAFERRIERE CRAIG ANTHONY JOSEP [CA]; P) 26 June 2003 (2003-06-26) claims 1,11,13; example 5	1-210
Y,P	WO 2007/071707 A (GLAXOSMITHKLINE BIOLOG SA [BE]; BIEMANS RALPH LEON [BE]; GARCON NATHAL) 28 June 2007 (2007-06-28) the whole document	1-210
	----- -/--	

Form PCT/SA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

page 3 of 4

104

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2008/055383

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y,P	DAGAN RON ET AL: "Combination vaccines containing DTPa-Hib: impact of IPV and coadministration of CRM197 conjugates:" EXPERT REVIEW OF VACCINES FEB 2008, vol. 7, no. 1, February 2008 (2008-02), pages 97-115, XP009105186 ISSN: 1744-8395 the whole document	1-210
T	KNUF M ET AL: "Neonatal Vaccination with an Acellular Pertussis Vaccine Accelerates the Acquisition of Pertussis Antibodies in Infants" JOURNAL OF PEDIATRICS, MOSBY-YEAR BOOK, ST. LOUIS, MO, US, vol. 152, no. 5, 1 May 2008 (2008-05-01), pages 655-660.e1, XP022605786 ISSN: 0022-3476 [retrieved on 2007-11-19] the whole document	1-210

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2008/055383

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007026249 A	08-03-2007	AU 2006286228 A1 CA 2621023 A1 EP 1931380 A2 EP 1967204 A1	08-03-2007 08-03-2007 18-06-2008 10-09-2008
WO 2006110381 A	19-10-2006	AR 053354 A1 AU 2006235013 A1 CA 2604363 A1 CN 101180079 A EP 1868645 A1 KR 20070118700 A	02-05-2007 19-10-2006 19-10-2006 14-05-2008 26-12-2007 17-12-2007
WO 03051392 A	26-06-2003	AU 2002361007 A1 BR 0215089 A CA 2470645 A1 CN 1635904 A EP 1463519 A2 HU 0402471 A2 IS 7297 A JP 2005516932 T MX PA04006073 A US 2005214329 A1 ZA 200404803 A	30-06-2003 16-11-2004 26-06-2003 06-07-2005 06-10-2004 29-03-2005 03-06-2004 09-06-2005 31-03-2005 29-09-2005 29-08-2005
WO 2007071707 A	28-06-2007	WO 2007071710 A2 WO 2007071711 A2	28-06-2007 28-06-2007

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
13 November 2008 (13.11.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/135514 A1

(51) International Patent Classification:
A61K 39/116 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/EP2008/055383

(22) International Filing Date: 30 April 2008 (30.04.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0708522.8 2 May 2007 (02.05.2007) GB
0712658.4 28 June 2007 (28.06.2007) GB
0802108.1 5 February 2008 (05.02.2008) GB

(71) Applicant (for all designated States except US): **GLAXO-SMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.** [BE/BE]; rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

(72) Inventor; and

(75) Inventor/Applicant (for US only): **POOLMAN, Jan** [NL/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

(74) Agents: **LUBIENSKI, Michael John et al.**; Glaxo-SmithKline, Corporate Intellectual Property, 980 Great West Road, Brentford Middlesex TW8 9GS (GB).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

(54) Title: VACCINE

(57) Abstract: The present invention relates to the field of vaccines and in particular to combination vaccines and co-administration schedules. The present inventors disclose that overuse of CRM in paediatric vaccines can result in bystander immune interference to certain antigens and provide solutions to this problem.

WO 2008/135514 A1

13

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/EP2008/055383

International filing date (day/month/year)
30.04.2008

Priority date (day/month/year)
02.05.2007

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. A61K39/16 A61P31/04

Applicant
GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☒ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Domingues, Helena

Telephone No. +49 89 2399-7810



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2008/055383

Box No. I Basis of the opinion:

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2008/055383

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-210</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-210</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-139, 148- 164, 171-195 (for 140-147, 165-170, 196-210</u>
	No: Claims	<u>see separate sheet)</u>

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rules 43bis.1 and 70.10)

and /or

2. Non-written disclosures (Rules 43bis.1 and 70.9)

see form 210

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

1. Concerning section VIII

Clarity, support (Art. 6 PCT) and disclosure (Art. 5 PCT)

The present set of claims comprises 210 claims, at least 15 of which are independent claims. This lack of conciseness derived from a plurality of claims referring to related subject-matter leads to an overall lack of clarity as to the subject-matter for which protection is sought.

Although the application refers in a general manner to the subject-matter recited in the claims, it does not appear to provide adequate support and disclosure for all the envisaged combinations contained in the claimed kits and for all the various aspects of the claimed methods of decreasing bystander interference or of immunising against various diseases using the kits in question. It is not clear which of the claims actually cover the only two concrete examples 2 and 3 described in the application.

In view of this general lack of conciseness, clarity and disclosure, it was not possible to carry out a comprehensive search. Consequently, the search was limited to the general concepts of immune interference, particularly bystander interference between DTPa-Hib and CRM197-containing conjugate vaccines; the adjuvant activity of Pw and IPV components in this type of vaccines; and to the teachings of examples 2 and 3.

2. Concerning section V

2.1 Industrial applicability (Art. 33(4) PCT)

Claims 140-147, 165-170, 196-210 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 39.1(iv) / 67.1(iv) PCT. The patentability can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment.

2.2. Novelty (Art. 33(2) PCT) and inventive step (Art. 33(3) PCT)

The documents referred to below are numbered according to their order of appearance in the international search report (ISR). Unless otherwise indicated, the relevant passages are those indicated therein.

2.2.1 Although the subject matter appears to refer to aspects known from the prior art, none of the available documents appears to disclose all the features of the present claims. Hence, the claims appear to be *formally* novel.

2.2.2 The claimed subject-matter does not appear to involve inventive step. Starting with claims 110 and 115, they lack inventive merit over D1 alone or in combination with D2 or D3, as explained below.

D1 (pgs. 30-33) describes the concomitant administration of prevnar or menjugate and infanrix-hexa or the three vaccines in combination to infants. The recipients of *menjugate and infanrix-hexa* and the recipients of *prevnar plus menjugate plus infanrix-hexa* achieved a protective titer against *N. meningitidis* which did not interfere with the immunogenicity of infanrix-hexa. Menjugate and prevnar (7 capsular polysaccharides) use CRM-197 as a carrier protein (see D1 pg. 14 and application, pg. 17).

D1 (pg. 34) also describes the co-administration of *infanrix-hexa and MenC-TT* versus *infanrix-hexa and MenC-CRM197 (meningitec)*. The former combination resulted in higher anti-PRP antibody GMCs than the latter and no impairment of the immune response to the co-administered antigens was observed.

In view of the above, the skilled person when looking for a combination vaccine comprising nine or more saccharide conjugates, would consider the encouraging results obtained with the co-administration of *prevnar plus menjugate plus infanrix-hexa*. He/she would also know from D1 that the administration of infanrix-hexa in combination with MenC-TT appears to be advantageous and would consider the combination of *prevnar plus MenC-TT plus infanrix-hexa*. The skilled person would thus obtain a combination comprising at least 8 saccharide conjugates and comprising all the technical features of the combination vaccine defined in claim 115.

Furthermore, since versions of prevnar with higher valency are known in the art, e.g. the 13-valent prevnar of Wyeth (see D2 and D3), the skilled person would consider replacing the 7-valent prevnar apparently used in the example of D1 by the 13-valent prevnar, thus arriving at a

combination of *13-valent prevnar plus MenC-TT plus infanrix-hexa* comprising all the technical features of the product defined in claim 110 without the need of inventive skill. Claims 111-114 and 116-147 appear to refer to technical features at which the skilled person would arrive using common knowledge and standard approaches in the art. Hence, these claims are also considered to lack inventive step.

2.2.3 The bystander interference related to the co-administration of CRM-conjugates and sensitive antigens, particularly Hib(PRP-TT), has been documented in the prior art. As stated above, D1 (pg. 34) reports the enhancement of the anti-PRP GMC when infanrix-hexa was administered with MenC-TT versus MenC-CRM197. D4 discloses enhanced anti-PRP GMCs when DTPa-Hib was co-administered with MenC-TT versus MenC-CRM. D5 reveals that in a study where DTPa-IPV-Hib and 7vPCV-CRM (prevnar) were either administered simultaneously or in a staggered fashion, anti-PRP levels were lower than expected in both groups (pg. 2062), particularly in the staggered administration group.

These observations suggest that CRM interferes with the immune response to Hib(PRP) and that this may be circumvented by using other carriers, such as TT, instead of CRM. In view of these teachings, the method of claims 148 and 164 lacks inventive step. Dependent claims 149-163 also do not seem to comprise any technical feature capable of rendering the claimed subject-matter inventive.

2.2.4 The kits of independent claims 1, 9, 18, 63, 172, 173, 175 and 177 appear to comprise container comprising components which, when used in a combination vaccine, would reduce bystander interference. However, various components of the claimed kits appear to contain products known from the prior art and widely used in current vaccination programs (infanrix-hexa, prevnar, MenC-TT). The particular combinations of those known components seems to render the claims novel. However, bystander interference of CRM-conjugates with sensitive antigens and ways to circumvent it are known from the prior art (see above). In view of this and of the fact that no surprising technical effect has been shown for the claimed kits and for their use in methods of immunization, it is not possible to recognise inventive step over the entire scope of claims 1, 9, 18, 63, 172, 173, 175 and 177 and of their corresponding dependent claims.

2.2.5 Claims 196 is directed to a method of administering Pa at birth and Hib in a primary

immunization schedule; wherein Hib is administered in a vaccine not comprising DTPa.

The fact that Pa administered at birth results in anti-Pa antibodies and that it may confer protection against pertussis disease is known from D6 and D7.

A Hib-containing vaccine not comprising DTPa is also known (Hib-MenC-TT; D8) and it has been shown to induce protective MenC and Hib responses in infants. Hence, unless an unexpected effect is shown for the method of claims 196 and 197, inventive step cannot be recognised. Similarly, since HB vaccines not comprising DTPa are known in the art (see D9), claims 198 is also considered to lack inventive step. The same applies to dependent claims 199-210.

2.2.6 For the sake of completeness, some observations concerning examples 2 and 3 are pertinent. Example 2 describes the concomitant administration of a vaccine comprising 11 capsular saccharides from *S. pneumoniae* conjugated to various carrier proteins (TT, PD, DT) and infanrix-hexa. The anti-PRP GMC is said to increase until 4 conjugates are on TT and then to drop. It is concluded that "the incorporation of small co-administered amount of TT leads to improved Hib PRP-TT immune response".

The use of different carriers in a composition comprising 11 or more saccharide conjugates from *S. pneumoniae* has been described in D10 and D11. In D11 serotypes 6B, 19F and 23F are conjugated to one carrier and the remaining serotypes to one or more different carriers. This is said to minimise the influence that conjugates of one serotype exert in the immune response to conjugates of other serotypes (pgs. 1 and 2). An increase in the anti-PRP GMC when MenC-TT is co-administered with infanrix-hexa has been reported in D1 (pg. 34). However, none of these documents appears to suggest that, when administering a 11-valent composition comprising saccharide conjugates from various serotypes of *S. pneumoniae*, together with infanrix-hexa, a higher anti-PRP GMC would be obtained when 3-4 conjugates of the polyvalent composition are on TT. This result thus seems unexpected and might serve as a basis for drafting new claims.

Example 3 describes the administration of Pa or HB at birth followed by infanrix-hexa at 2, 4 and 6 months. The anti-PRP and anti-TT GMCs were lower in the former group. As explained above, D6 and D7 disclose the administration of DTPa at birth and suggest that it should be considered to protect infants under 6 months against pertussis disease. In view of this, the skilled person would have been highly motivated to investigate the effect of the administration of Pa at birth on other standard vaccines routinely administered to infants, such as infanrix-hexa. He/she would

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/EP2008/055383

have been able to do that using standard approaches in the art and would have arrived at the results presented in example 3. Hence, it does not seem possible to consider those results as surprising or unexpected.

3: Concerning section VI

WO2007/071707 and Dagan et al. might be found relevant during the regional phase.

VACUNA**RESUMEN OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION**

5 La presente invención se refiere al campo de las vacunas y en particular a vacunas combinadas y calendarios de administración conjunta. Los presentes inventores describen que el uso excesivo de CRM en las vacunas pediátricas puede provocar interferencia inmunitaria inespecífica con ciertos antígenos y proporcionan soluciones a este
10 problema.

VACUNA

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere al campo de las vacunas y en particular a calendarios de inmunización primaria, y kits para realizar dichos calendarios de inmunización.

ANTECEDENTES

El creciente número de vacunas recomendadas para la administración en los calendarios de inmunización infantiles rutinarios hace que sea esencial el uso de vacunas combinadas para minimizar la incomodidad y mantener un cumplimiento alto. La incorporación de vacunas recientemente introducidas se verá muy facilitada si pueden usarse combinadas con las vacunas actuales. Sin embargo, las vacunas combinadas conllevan el riesgo de que los antígenos interfieran con la respuesta inmunitaria a otros antígenos presentes en las vacunas, y del mismo modo la administración conjunta de diferentes vacunas comporta un riesgo similar. La OMS recientemente ha publicado en el Weekly epidemiological record (N.º 12, 23 de marzo de 2007) que las vacunas "no deberían interferir de forma significativa con la respuesta inmunitaria a otras vacunas que se administren de forma simultánea". Por lo tanto, existe un reconocimiento a nivel mundial de la importancia de controlar las respuestas inmunitarias en estas situaciones y de minimizar riesgo de interferencia inmunitaria.

El CRM-197 es un transportador popular para los antígenos de sacáridos, y ya se ha usado en los calendarios de inmunización primaria

en vacunas autorizadas, que incluyen por ejemplo Prevnar® y Meningitec®. Sin embargo, el presente inventor ha encontrado que CRM puede tener un efecto negativo sobre la respuesta inmunitaria a ciertos antígenos, que en el presente documento se denominan antígenos sensibles. El inventor ha encontrado también otras formas recientemente valoradas en las que puede producirse la interferencia inmunitaria con un antígeno sensible, y procedimientos por los que puede minimizarse.

La vacunación contra la enfermedad de la tos ferina introducida en los años 40 ha tenido mucho éxito en la reducción de la morbilidad y mortalidad debidas a esta enfermedad en niños y bebés. En los países con una elevada vacunación contra la tos ferina en bebés, este éxito se ha visto acompañado en las últimas décadas por una desviación en la epidemiología de la enfermedad a grupos de más edad y a bebés muy pequeños, que presentan un mayor riesgo de complicaciones graves.

Los calendarios de vacunación que se inician a las 6 - 8 semanas de edad dejan un intervalo de varios meses en los que el bebé no inmunizado o parcialmente inmunizado puede ser vulnerable a la infección por tos ferina debido al contacto íntimo. La vacunación neonatal muy temprana contra la tos ferina puede ser una forma de proteger a los bebés muy pequeños, al reducir el periodo durante el que son vulnerables a la enfermedad. Debido a la inmadurez parcial del sistema inmunitario al nacer, la inmunización neonatal generalmente no produce una rápida respuesta de anticuerpos, sino que puede provocar una impresión inmunológica eficiente que puede actuar como base para las

futuras respuestas (Siegrist CA. Neonatal and early life vaccinology. Vaccine 2001, 19: 3331-3346).

Esta estrategia se investigó en los 60 usando la vacuna de DTPw disponible en aquel momento, lo que produjo una "paralización
5 inmunitaria" temporal, con respuestas inmunitarias menores que con el calendario de vacunación posterior clásico (Provenzano W, Wetterlow LH, Sullivan CL. Immunization and antibody response in the newborn infant. I – Pertussis inoculation within twenty-four hours of birth. 1965 NEJM; Vol. 273 n.º 17: 959-965). La viabilidad de la estrategia que usaba
10 vacunas combinadas de tos ferina acelular con DTPa se demostró posteriormente en un estudio preclínico de Siegrist y cols. (Roudit C, Bozzotti P, Mielcarek N, y cols. Immunogenicity and protective efficacy of neonatal vaccination against *Bordetella pertussis* in a murine model: evidence for early control of pertussis. Infect Immun. Julio de 2002; 70(7):
15 3521-8).

Los inventores diseñaron un estudio clínico para evaluar la viabilidad de una dosis al nacer de vacuna de Pa para acelerar el desarrollo de respuestas de anticuerpos contra la tos ferina. Se investigó el efecto de la respuesta de anticuerpos a un calendario de inmunización
20 primaria.

SUMARIO DE LA INVENCION

El presente inventor ha encontrado que el uso excesivo de CRM u otros antígenos potentes (véase la definición más adelante), por ejemplo en forma de un transportador conjugado con sacáridos, puede provocar
25 respuestas inmunitarias reducidas a antígenos sensibles;

sorprendentemente incluso si CRM no está conjugado con el antígeno sensible e incluso si el antígeno sensible y CRM no están en el mismo envase pero se administran a la vez o se administran de forma alternante durante la inmunización primaria.

- 5 Por consiguiente, en una realización de la invención, se proporciona un kit de vacuna que comprende al menos nueve conjugados de sacáridos, en el que entre dos y siete conjugados de sacáridos inclusive están conjugados con la proteína transportadora CRM, siendo adecuado dicho kit para usar en un calendario de
- 10 inmunización primaria, comprendiendo dicho kit:

un primer envase que comprende

a) un conjugado de sacáridos de Hib en presencia de CRM, DT o cualquier otro derivado de DT, pero que no está conjugado con la CRM, DT o cualquier otro derivado de DT;

- 15 b) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos conjugado con CRM; y

c) opcionalmente al menos otro conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,

y un segundo envase que comprende

- 20 d) al menos un conjugado de sacáridos conjugado con CRM;

e) opcionalmente al menos otro conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,

y opcionalmente un tercer envase que opcionalmente comprende al menos un conjugado de sacáridos, en el que

f) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos está conjugado con CRM;

g) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

5 A no ser que se haya definido de forma específica más arriba, los nueve o más sacáridos pueden estar distribuidos de cualquier forma entre los envases de la invención.

 Por lo tanto, cuando Hib (un antígeno sensible) está es en una vacuna en un primer envase de la invención en presencia de un derivado
10 de DT (por ejemplo DT libre en una vacuna de DTP), puede administrarse conjuntamente con hasta 7 conjugados que están en CRM (por ejemplo Prevnar® en un segundo envase). Sin embargo, si se añade un noveno o más conjugado de sacáridos al esquema de inmunización primaria (por ejemplo un sacárido de *Neisseria meningitidis*
15 tal como MenC) en el primero, segundo o tercer envase entonces éste debería estar conjugado con una proteína transportadora distinta de CRM.

 Así, cuando CRM no está presente en el mismo envase que el antígeno sensible Hib, la fuente de DT del primer envase puede ser una
20 vacuna de DTP.

 La siguiente tabla proporciona ejemplos de vacunas que pueden administrarse conjuntamente usando los kits de la invención tal como se ilustran en la realización anterior.

1 ^{er} envase	2 ^o envase	3 ^{er} envase
Infanrix®-hexa	Prevnar®	MenC(Y)-TT

Infanrix®-hexa MenC(Y)-TT	/	Prevnar®	/
Infanrix®-HB-IPV Hib-MenC(Y)-TT	/	Prevnar®	/

La dosis media de CRM por conjugado de sacáridos
opcionalmente no debería exceder una cierta carga. Por lo tanto en una
realización de la invención, el kit tal como se describe anteriormente
5 contiene una dosis media de CRM por conjugado de sacáridos
conjugado con CRM de 1-15 µg, 1-10 µg, 1-5 µg o 1-3 µg. En una
realización adicional de la invención, el kit tal como se describe
anteriormente contiene una carga total de CRM inferior a 35 µg, por
ejemplo 2-30 µg, 5-25 µg o 10-20 µg.

10 Por lo tanto, en los kits de la invención, 3 de los 9 (o más)
sacáridos pueden estar conjugados con CRM. De estos 3, uno puede
tener 2 µg de CRM, uno puede tener 4 µg de CRM y uno puede tener 6
µg de CRM. En este contexto, la carga media de CRM en el kit es de 12
µg / 3 = 4 µg.

15 De forma similar, se ha encontrado que el antígeno superficial de
HB (HB) es un antígeno sensible por ejemplo a CRM, y el inventor ha
encontrado un límite en el uso de CRM, por ejemplo como transportador
de un sacárido, más allá del cual se reduce la respuesta inmunitaria al
antígeno sensible.

20 Por consiguiente en una realización adicional de la invención se
proporciona un kit de vacuna que comprende al menos siete conjugados

de sacáridos, en el que entre dos y seis conjugados de sacáridos inclusive están conjugados con la proteína transportadora CRM, siendo dicho kit adecuado para usar en un calendario de inmunización primaria, comprendiendo dicho kit:

- 5 un primer envase que comprende
 - a) HB en presencia de CRM, DT o cualquier otro derivado de DT, opcionalmente adsorbido sobre fosfato de aluminio;
 - b) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos conjugado con CRM; y
- 10 c) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,
 - y un segundo envase que comprende
 - d) al menos un conjugado de sacáridos conjugado con CRM;
 - e) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no
- 15 conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,
 - y opcionalmente un tercer envase que opcionalmente comprende al menos un conjugado de sacáridos en el que
 - f) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos está conjugado con CRM;
- 20 opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

Por lo tanto, HB puede estar presente en el primer envase en el contexto de una vacuna de DTP tal como Infanrix®-hexa, una vacuna contra estreptococos heptavalente en la que no más de 6 sacáridos

están conjugados con CRM puede estar presente en el segundo envase y MenC-TT puede estar presente en el tercer envase.

La dosis media de CRM por conjugado de sacáridos opcionalmente no debería exceder una cierta carga. Por lo tanto en una
5 realización de la invención, el kit tal como se describe anteriormente contiene una dosis media de CRM por conjugado de sacáridos conjugado con CRM de 1-9 µg, 1-6 µg, 1-5 µg o 1-3 µg. En una realización adicional de la invención, el kit tal como se describe anteriormente contiene una carga total de CRM inferior a 20 µg, por
10 ejemplo 2-18 µg, o 5-15 µg.

Además, el inventor sugiere un modo por el que más de 7 / 8 sacáridos relacionados con los antígenos sensibles HB / Hib pueden estar conjugados con CRM y administrarse con el / los antígeno(s) sensible(s), de forma específica asegurándose de que el antígeno
15 sensible no está en el mismo envase que vacunas que contienen CRM, DT o cualquier otro derivado de DT. Así, en una realización adicional de la invención se proporciona un kit de vacuna que comprende al menos ocho conjugados de sacáridos conjugados con proteína transportadora CRM, adecuados para usar en un calendario de inmunización primaria,
20 comprendiendo dicho kit:

un primer envase que comprende

a) un antígeno sensible que no está en presencia de CRM, DT o cualquier otro derivado de DT; y

b) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no
25 conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,

- y un segundo envase que comprende
- c) al menos siete, ocho, diez, once, trece, catorce o quince conjugados de sacáridos conjugados con CRM;
 - d) opcionalmente al menos otro conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,
 - y opcionalmente un tercer envase que opcionalmente comprende al menos un conjugado de sacáridos en el que
 - e) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos está conjugado con CRM;
 - f) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

Este kit tiene una vacuna en un primer envase que no está en presencia de derivado de DT, por ejemplo que no está en presencia de una vacuna de DTP o un sacárido conjugado con CRM, por lo tanto no tendrá tendencia a la interferencia inespecífica relacionada con CRM y puede coadministrarse con ocho o más conjugados conjugados con CRM, por ejemplo un conjugado neumocócico 13-valente de sacáridos conjugados con CRM en el segundo envase o Prevnar® + MenCCRM en un segundo / tercer envase.

La siguiente tabla proporciona ejemplos de vacunas que pueden administrarse conjuntamente usando los kits de la invención tal como se ilustran en la realización anterior.

1 ^{er} envase	2 ^o envase	3 ^{er} envase
Hib o HB	Prevnar® (o 9, 10, 11, 13 o más sacáridos en	DTP

	CRM)	
Hib o HB	Prevnar® + MenC-CRM	DTP
Hib o HB	Prevnar® + DTP	MenC-CRM
Hib o HB	Prevnar® + MenC-CRM + DTP	/
Hib o HB + MenC-TT	Prevnar® (o 9, 10, 11, 13 o más sacáridos en CRM)	DTP
Hib o HB + MenC-TT	Prevnar® + DTP	/
Hib o HB	Prevnar® (o 9, 10, 11, 13 o más sacáridos en CRM) + MenC-TT	DTP
Hib o HB	Prevnar® + DTP	MenC-TT
Hib o HB	Prevnar® (o 9, 10, 11, 13 o más sacáridos en CRM) + MenC-TT + DTP	/

Además, el inventor sugiere un modo por el que mejorar la reducción en la respuesta inmunitaria al antígeno sensible minimizando el número de sacáridos que están conjugados con CRM. Así, en una
5 realización adicional de la invención se proporciona un kit de vacuna que comprende siete o más conjugados de sacáridos en el que menos de siete (por ejemplo 6, 5, 4, 3, 2, 1 ó 0) conjugados de sacáridos están

conjugados con la proteína transportadora CRM, siendo dicho kit adecuado para usar en un calendario de inmunización primaria, comprendiendo dicho kit:

- un primer envase que comprende
 - 5 a) conjugado de sacáridos de Hib, no conjugado con CRM, DT o ningún otro derivado de DT;
 - b) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,
 - y un segundo envase que comprende opcionalmente al menos 7
- 10 conjugados de sacáridos en el que
 - c) menos de siete (por ejemplo 6, 5, 4, 3, 2, 1 ó 0) sacáridos conjugados con CRM,
 - y opcionalmente un tercer envase que comprende
 - d) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no
- 15 conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

Dicho kit podría comprender Infanrix®-hexa en el primer envase, Synflorix® en el segundo envase y una vacuna de conjugado de sacáridos capsulares de meningococos en el tercer envase.

La siguiente tabla proporciona ejemplos de vacunas, en las que
20 no hay antígenos con CRM, que pueden administrarse conjuntamente usando los kits de la invención tal como se ilustran en la realización anterior.

Vacuna que contiene DTP-Hib, tal como Infanrix®-hexa	Synflorix®	Men(AW)C(Y)-TT
Hib	Synflorix® +	DTP

	MenC-TT	
Hib	DTP + Synflorix®	MenC-TT
Hib	Synflorix®	DTP + MenC-TT
Hib	DTP + Synflorix® + MenC-TT	/
Hib + MenC-TT	Synflorix®	DTP
HibMenC(Y)(AW)-TT	Synflorix®	DTPaHBIPV
DTPaHBIPVHibMenC(Y)(AW)	Synflorix®	/

La siguiente tabla indica que vacunas deberían no deberían administrarse conjuntamente de acuerdo con las realizaciones de la invención:

Calendarios de inmunización primaria	Posibles efectos sobre la valoración inmunitaria
Hexavac® + Pevnar®	HB↓ PS6B↓
Infanrix®-hexa + Pevnar®	PS6B↑ HB OK
Pediacel® + Pevnar®	PS6B↓
Infanrix®-hexa + MenC-CRM	Bien
Infanrix® penta + MenC-CRM	Bien
Pediacel® + MenC-CRM	Bien
Infanrix®-Hib + MenC-CRM	Hib↓
Hexavac® + MenC-TT	Hib↑

Infanrix®-hexa + MenC-TT	Hib↑
Pediacel® + MenC-TT	Hib↑
Pediacel® + Prevnar® + MenC-CRM	Hib↓
DTPa + HibMenC(Y)-TT	Bien
DTPa(HB)IPVHib + Synflorix®	Hib↑
Infanrix®-HB-IPV / Hib-MenC(Y)-TT + Synflorix®*	Bien
Infanrix®-HB-IPV / Hib-MenC(Y)-TT + Prevnar®*	Hib↓
DTPa(HBIPV)Hib + 13v Prevnar	Hib↓
Pa al nacer, después Infanrix®-hexa	Hib↓ HB↓ (véase el ejemplo 3)

*Hipótesis basadas en los principios que se describen en el presente documento, que sin embargo deben analizarse todavía.

↑ y ↓ significa que la respuesta al antígeno relevante aumenta o disminuye respectivamente comparada con si la vacuna que contiene DTP (por ejemplo Infanrix®-hexa) se administra sin ninguna otra vacuna adicional (es decir no se administra conjuntamente).

En una realización adicional de la presente invención se proporciona una vacuna combinada adecuada para la inmunización primaria que comprende nueve o más conjugados de sacáridos;

a) en la que el conjugado de sacáridos de Hib está presente pero no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT;

b) en la que entre dos y siete conjugados de sacáridos inclusive están conjugados con CRM;

c) en la que otro u otros conjugado(s) de sacáridos no está conjugado con CRM.

5 La dosis media de CRM por conjugado de sacáridos opcionalmente no debería exceder una cierta carga. Por lo tanto en una realización de la invención, la vacuna combinada tal como se describe anteriormente contiene una dosis media de CRM por conjugado de sacáridos conjugado con CRM de 1-15 µg, 1-10 µg, 1-5 µg o 1-3 µg. En
10 una realización adicional de la invención, la combinación tal como se describe anteriormente contiene una carga total de CRM inferior a 35 µg, por ejemplo 2-30 µg, 5-25 µg o 10-20 µg.

En una realización adicional de la presente invención se proporciona una vacuna combinada adecuada para la inmunización
15 primaria que comprende siete o más sacáridos;

a) en la que está presente HB;

b) en la que entre dos y seis conjugados de sacáridos inclusive están conjugados con CRM;

c) en la que otro u otros conjugado(s) de sacáridos no están
20 conjugados con CRM.

La dosis media de CRM por conjugado de sacáridos opcionalmente no debería exceder una cierta carga. Por lo tanto en una realización de la invención, la vacuna combinada tal como se describe anteriormente contiene una dosis media de CRM por conjugado de
25 sacáridos conjugado con CRM de 1-9 µg, 1-6 µg, 1-5 µg o 1-3 µg. En

una realización adicional de la invención, la combinación tal como se describe anteriormente contiene una carga total de CRM inferior a 20 µg, por ejemplo 2-18 µg o 5-15 µg.

IPV puede administrarse junto con el antígeno sensible en kits o
5 vacunas combinadas de la invención ya que tiene un efecto positivo sobre la respuesta inmunitaria al antígeno sensible (es decir, actúa como inmunomodulador – véase la definición). Para obtener dichos efectos positivos, es importante que la vacuna con IPV esté presente en el mismo envase que el antígeno sensible. Pw de forma similar puede
10 actuar como inmunomodulador.

Por lo tanto, en una realización, se proporciona un kit o vacuna combinada de la invención en los que el envase con el antígeno sensible además comprende IPV.

En una realización adicional, se proporciona un kit o vacuna
15 combinada de la invención en los que el envase con el antígeno sensible además comprende Pw.

En otra realización se proporciona un procedimiento de administrar los kits o vacunas combinadas de la invención.

En una realización de la presente invención se proporciona un
20 procedimiento de disminuir la interferencia inespecífica de CRM en un antígeno sensible en un calendario de inmunización primaria de una vacuna que comprende una o más de las siguientes etapas

- a) disminuir la cantidad de CRM y/o el número de conjugados en CRM en la vacuna (por ejemplo a 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 ó 0);
- 25 b) incluir IPV en la vacuna que comprende el antígeno sensible;

- c) incluir Pw en la vacuna que comprende el antígeno sensible;
- d) disminuir la dosis de DT en la vacuna que comprende el antígeno sensible;
- e) aumentar la dosis del antígeno sensible;
- 5 f) si Pa está presente en la vacuna que comprende antígeno sensible, reducir la dosis de Pa o el número de componentes de Pa;
- g) eliminar CRM de la vacuna que comprende el antígeno sensible, o eliminar CRM completamente del kit, o eliminar los derivados de CRM, DT y DT de la vacuna que comprende el antígeno sensible.
- 10 En una realización adicional de la presente invención se proporciona un procedimiento de disminuir la interferencia inespecífica en un antígeno sensible cuando se usa un kit que comprende ocho o más conjugados de sacáridos conjugados con CRM, que comprende
 - un primer envase que comprende
 - 15 a) un(os) antígeno(s) sensible(s) en presencia de CRM, DT o cualquier otro derivado de DT;
 - y un segundo envase que comprende
 - b) siete o más conjugados de sacáridos conjugados con CRM;
 - c) opcionalmente al menos otro conjugado de sacáridos no
 - 20 conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT;
 - y opcionalmente un tercer envase que opcionalmente comprende al menos un conjugado de sacáridos que está
 - d) opcionalmente conjugado con CRM;
 - e) opcionalmente no conjugado con CRM,

que comprende la etapa de eliminar todo CRM, DT o cualquier otro derivado de DT del envase que comprende el antígeno sensible o reducir el número de conjugados de sacáridos conjugados con CRM a no más de siete (por ejemplo 6, 5, 4, 3, 2, 1 ó 0).

- 5 En una realización adicional de la presente invención se proporciona un procedimiento de inmunizar contra una enfermedad provocada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, *Haemophilus influenzae* de tipo b, *Streptococcus pneumonia* y *Neisseria meningitidis* usando el kit o
- 10 vacunas combinadas de la invención, en el que
- a) cada antígeno del kit o la vacuna combinada se administra 2-3 veces en un calendario de inmunización primaria;
 - b) Hib no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT;
 - 15 c) hay 7 o más conjugados de antígenos de sacáridos capsulares de *Streptococcus pneumonia*;
 - d) hay uno o más conjugado(s) de antígenos de sacáridos capsulares de *Neisseria*;
 - e) el número de antígenos de sacáridos capsulares de
 - 20 *Streptococcus pneumonia* y *Neisseria meningitidis* conjugados con CRM es inferior a 8.

En una realización adicional de la presente invención se proporciona un procedimiento de inmunizar contra una enfermedad provocada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium*

25 *diphtheriae*, virus de la hepatitis B, *Haemophilus influenzae* de tipo b,

Streptococcus pneumonia y *Neisseria meningitidis* usando el kit o vacuna combinada de la invención, en el que

a) cada antígeno del kit o vacuna combinada se administra 2-3 veces en un calendario de inmunización primaria;

5 b) se reduce la dosis de Pa o el número de componentes de Pa.

El presente inventor ha observado que los antígenos Pa pueden tener un efecto negativo sobre la respuesta inmunitaria a antígenos sensibles.

Por lo tanto, en una realización, se proporciona un kit, vacuna
10 combinada o procedimiento de la invención en el que si está presente Pa, está presente PT (o derivado de PT) en Pa a una dosis que no supera 10 µg, 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 µg por dosis de 0,5 ml.

En una realización adicional, se proporciona un kit, vacuna combinada o procedimiento de la invención en el que si está presente
15 Pa, está presente FHA en Pa a una dosis que no supera 10 µg, 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 µg por dosis de 0,5 ml.

En una realización adicional, se proporciona un kit, vacuna combinada o procedimiento de la invención en el que si está presente Pa, está presente PRN en Pa a una dosis que no supera 6 µg, 0,5-6, 0,8-
20 5, 1-4, 2-3 µg por dosis de 0,5 ml.

En una realización adicional se proporciona un kit, vacuna combinada o procedimiento de la invención en el que si está presente Pa, está presente PT en Pa a una dosis de aproximadamente 2,5 µg, está presente FHA en Pa a una dosis de aproximadamente 2,5 µg y está

presente PRN en Pa a una dosis de aproximadamente 0,8 µg por dosis de 0,5 ml.

- En una realización adicional se proporciona un kit, vacuna combinada o procedimiento de la invención en el que si está presente
- 5 Pa, está presente PT en Pa a una dosis de aproximadamente 5 µg, está presente FHA en Pa a una dosis de aproximadamente 5 µg y está presente PRN en Pa a una dosis de aproximadamente 2,5 µg por dosis de 0,5 ml.

DEFINICIONES

- 10 **Aproximadamente o en torno a:** $\pm 10\%$ del valor que se cita, pero debería ser acorde al contexto de uso.

- Interferencia inespecífica:** el efecto en la respuesta inmunitaria a un antígeno sensible (tal como sacárido capsular Hib o antígeno superficial de la hepatitis B) cuando se administra(n) antígeno(s)
- 15 potente(s) tal como CRM197 junto con antígeno(s) sensible(s). Dicha interferencia puede observarse incluso si los antígenos potentes y sensibles no se administran en el mismo envase de vacuna, pero se administran conjuntamente o se administran en un calendario de inmunización primaria alternante. Por ejemplo CRM que se administra
- 20 conjuntamente con una composición que comprende antígeno sensible y DT.

- Administración conjunta:** la administración de dos o más antígenos en vacunas separadas que se administran en el mismo sitio o en sitios diferentes, durante la misma visita al practicante.
- 25 Habitualmente, las vacunas múltiples se administran en sitios diferentes -

es decir, en sitios que drenan a nódulos linfáticos diferentes, por ejemplo miembros diferentes. Aunque opcionalmente no tiene que ser este el caso (las vacunas pueden administrarse en sitios que drenan al mismo nódulo linfático).

- 5 **Vacuna combinada:** una vacuna que confiere protección contra dos o más enfermedades usando dos o más restos antigénicos diferentes.

CRM: cualquier mutante de toxina de la difteria que inactiva la toxina de tipo silvestre y que no se ha desintoxicado químicamente.

- 10 CRM-197 es un mutante de DT que se usa habitualmente. Otros mutantes de DT también pueden incluir CRM176, CRM228, CRM 45 (Uchida y cols J. Biol. Chem. 218; 3838-3844, 1973); CRM 9, CRM 45, CRM102, CRM 103 y CRM107 y otras mutaciones descritas por Nicholls y Youle en Genetically Engineered Toxins, Ed: Frankel, Maecel Dekker
15 Inc, 1992; delección o mutación de Glu-148 a Asp, Gln o Ser y/o Ala-158 a Gly y otras mutaciones que se describen en los documentos US 4709017 o US 4950740; mutación de al menos uno o más restos Lys-516, Lys-526, Phe-530 y/o Lys-534 y otras mutaciones que se describen en los documentos US 5917017 o US 6455673; o fragmentos que se describen
20 en el documento US 843711. CRM no cubre la toxina de la difteria, el toxoide de la difteria ni los toxoides de mutantes de la difteria.

Derivado de DT: un antígeno que es o un mutante inactivado de la toxina de la difteria (por ejemplo

- CRM – véase más arriba) o una forma químicamente inactivada
25 de toxina de la difteria o CRM, o cualquier otro mutante o truncado de la

toxina de la difteria que mantiene la función de provocar anticuerpos que de forma específica se unen a la toxina de la difteria.

Hexavac®: vacuna combinada de difteria-tétanos-tos ferina acelular-polio inactivada- vacuna de la hepatitis B-vacuna de
 5 *Haemophilus influenzae* de tipo b (vacuna de DTPa-IPV-HB / Hib, Sanofi-Aventis). Contiene 20 UI de DT, 40 UI de TT, 25 µg de PT, 25 µg de FHA, 40 D-unidades de antígeno poliovirus de tipo 1, 8 D-unidades de antígeno poliovirus de tipo 2 y 32 D-unidades de antígeno poliovirus de tipo 3, 12 µg de PRP, 5 µg de HBsAg.

10 **Hib:** sacárido capsular de PRP conjugado con una proteína transportadora. Los kits o vacunas combinadas de la invención pueden comprender 1-10 µg de sacárido (por ejemplo 2-8 µg, 5 3-7 µg, 4-6 µg) por dosis, conjugado con o sin un enlazador tal como ADH. Un ejemplo de Hib es el antígeno contenido en las vacunas de conjugado conocidas
 15 vacunas tales como Hiberix® (GlaxoSmithKline Biologicals s.a.). Pueden usarse diversos transportadores proteínicos en el Hib de la invención, por ejemplo TT o NTHi PD (documento EP 0594610). Otro posible transportador proteínico en Hib de la invención es OMC o OMP (complejo proteínico de la membrana externa) de *Neisseria meningitidis*
 20 (por ejemplo tal como para el conjugado Hib-OMC de PedvaxHIB de Merck & Co. Inc).

Inmunomodulador: antígeno que se administra en una vacuna, que cuando se administra junto con un antígeno sensible y un antígeno potente, mejora la respuesta inmunitaria contra la enfermedad provocada
 25 por el organismo del que se deriva el antígeno sensible comparada con

si el antígeno sensible se administra junto con el antígeno potente únicamente.

Los ejemplos incluyen IPV y Pw.

- Infanrix®-hexa:** vacuna combinada de difteria-tétanos-tos ferina
 5 acelular-hepatitis B-vacuna de polio inactivada-vacuna de *Haemophilus influenzae* de tipo b (vacuna de DTPa-HBV-IPV / Hib, GlaxoSmithKline).
 Contiene al menos 30 unidades internacionales (UI) de DT, al menos 40 UI de TT, 25 µg de PT, 25 µg de FHA, 8 µg de PRN, 10 µg de antígeno superficial de la hepatitis B (HBsAg), 40 D-unidades de antígeno
 10 poliovirus de tipo 1, 8 D-unidades de antígeno poliovirus de tipo 2, 32 D-unidades de antígeno poliovirus de tipo 3 y 10 µg de fosfato de polirribosil ribitol (PRP) conjugado con TT.

- Infanrix® penta:** vacuna combinada de difteria-tétanos-tos ferina
 acelular-hepatitis B-vacuna de polio inactivada (vacuna de DTPa-HBV-
 15 IPV, GlaxoSmithKline). Contiene al menos 30 UI de DT, al menos 40 UI de TT, 25 µg de PT, 25 µg de FHA, 8 µg de PRN, 10 µg de HBsAg, 40 D-unidades de antígeno poliovirus de tipo 1, 8 D-unidades de antígeno poliovirus de tipo 2 y 32 D-unidades de antígeno de poliovirus de tipo 3.

- Kit:** las vacunas en envases distintos pueden envasarse junto con
 20 instrucciones para usar a la vez (pero no en el sentido de mezclar el contenido de los envases antes de la administración). De forma alternativa, las vacunas pueden envasarse por separado con instrucciones de cómo se pueden usar con otras vacunas que se describen en los kits de la invención.

Las vacunas en kits de la invención pueden colorearse o numerarse o se puede adoptar otro sistema para que los practicantes reconozcan fácilmente qué vacunas / envases deberían administrarse juntos en los kits de la invención y cómo y cuándo deberían administrarse (administrarse conjuntamente o administrarse de forma alternante en un calendario de inmunización primaria).

Opcionalmente: en el presente documento en cada caso se pretende que sea una bae expresa o bien para la característica opcional que se cita esté presente O esté ausente.

10 **Pa:** vacuna de tos ferina acelular, que habitualmente comprende PT, FHA y PRN, y opcionalmente los aglutinógenos 2 y 3.

Pediacel®: vacuna combinada de difteria-tétanos-tos ferina acelular-vacuna de polio inactivada- vacuna de *Haemophilus influenzae* de tipo b (vacuna de DTPa-IPV / Hib, Sanofi-Aventis). Contiene al menos
15 30 UI de DT, al menos 40 UI de TT, 20 µg de PT, 20 µg de FHA, 3 µg de PRN, 5 µg de FIM2 y FIM3, 40 D-unidades de antígeno poliovirus de tipo 1, 8 D-unidades de antígeno poliovirus de tipo 2 y 32 D-unidades de antígeno poliovirus de tipo 3 y 10 µg de PRP conjugado con TT.

Prevnar®: una vacuna 7-valente de *Streptococcus pneumoniae*
20 constituida por sacáridos capsulares que se derivan de los siguientes serotipos: conjugados 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, y 23F, todos conjugados con CRM-197 (Wyeth).

Prevnar 13-valente: Una vacuna 13-valente de *Streptococcus pneumoniae* constituida por sacáridos capsulares conjugados con CRM-
25 197 (Wyeth).

Inmunización primaria: un calendario de inmunizaciones habitualmente durante el primer año de vida, que a menudo comprende 2 ó 3 inmunizaciones para cada antígeno, por ejemplo a los 2, 4, 6 meses o 1, 3, 5 meses o 2, 3, 4 meses. Los antígenos pueden administrarse conjuntamente (administrados en la misma visita, habitualmente en miembros diferentes y de este modo habitualmente drenan a nódulos linfáticos diferentes) o se administran en un protocolo alternante. Habitualmente se prefiere la administración conjunta ya que implica menos visitas al practicante y por lo tanto conduce a un mejor cumplimiento.

PS6B: conjugado de polisacárido capsular derivado de *Streptococcus pneumoniae* serotipo 6B.

Derivado de PT: toxina de la tos ferina en vacuna, o de forma alternativa un mutante que está inactivado y por lo tanto no requiere inactivación química.

Sacárido: puede indicar polisacárido u oligosacárido e incluye a ambos.

Sacárido a menudo se refiere al antígeno de sacárido capsular de bacterias patógenas por ejemplo *Haemophilus influenzae* b, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, y puede ser un polisacárido de longitud completa o pueden ser sacáridos y oligosacáridos de tamaño bacteriano (que de forma natural presentan un número bajo de unidades repetidas, o que son polisacáridos de tamaño reducido para mayor manejabilidad, pero que todavía son capaces de inducir una respuesta

inmunitaria protectora en un huésped) que son notorios en la técnica de las vacunas (véase por ejemplo el documento EP 497525).

Antígeno sensible: antígeno particularmente susceptible a la interferencia inmunitaria – en particular a la interferencia inespecífica en un calendario de inmunización primaria. Antígeno que se administra en una vacuna, que cuando se administra junto con un antígeno potente (véase más adelante) produce una respuesta inmunitaria menor contra la enfermedad provocada por el organismo del que se deriva el antígeno, comparada con si el antígeno sensible se administra por sí sólo. Los ejemplos incluyen el antígeno superficial de la hepatitis B, el antígeno de *Haemophilus influenzae* b y PS6B.

Administración alternante: la administración de dos o más antígenos en un calendario de inmunización primaria en vacunas distintas durante visitas diferentes al practicante. Estas administraciones habitualmente se distancian en 1-4 semanas o más.

Antígeno potente: antígeno que se administra en una vacuna, que cuando se administra junto con (o al mismo tiempo que) un antígeno sensible produce una respuesta inmunitaria menor contra la enfermedad provocada por el organismo del que se deriva el antígeno sensible, comparada con si el antígeno sensible se administra por sí sólo. Los ejemplos incluyen Pa, CRM-197.

Synflorix®: Una vacuna 10 valente de *Streptococcus pneumoniae* constituida por los siguientes conjugados: conjugados PS1-PD, PS4-PD, PS5-PD, PS6B-PD, PS7F-PD, 5 PS9V-PD, PS14-PD, PS18C-TT, PS19F-DT y PS23F-PD (por ejemplo a una dosis de 1, 3, 1, 1, 1, 1, 1, 3,

3, 1 µg de sacárido, respectivamente por dosis humana)
(GlaxoSmithKline) (véase por ejemplo el documento WO2007 / 071707).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los antígenos en kits y vacunas combinadas de la invención
5 estarán presentes en "cantidades inmunológicamente eficaces" es decir,
la administración de esa cantidad a un individuo, ya sea en una dosis
única o como parte de una serie, es eficaz para el tratamiento o
prevención de una enfermedad. El tratamiento inicial según los
calendarios de inmunización primaria aceptados viene seguido de dosis
10 de refuerzo según sea necesario.

Componentes de la vacuna de DTP

Las vacunas de DTP de la invención confieren protección contra
las enfermedades provocadas por *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium*
tetani y *Bordetella pertussis*. Habitualmente está formado por toxoide de
15 la difteria (DT), toxoide del tétanos (TT) y o bien tos ferina de células
enteras (Pw) o tos ferina acelular (Pa) que está formada por uno o más
de los componentes que se describen más adelante.

El antígeno de la difteria es habitualmente un toxoide de la
difteria. La preparación de toxoides de la difteria (DT) está bien
20 documentada. Puede usarse cualquier toxoide de la difteria adecuado.
Por ejemplo, puede producirse DT mediante purificación de la toxina a
partir de un cultivo de *Corynebacterium diphtheriae* seguido de inactivación
química, pero de forma alternativa se prepara mediante purificación de
un análogo recombinante, o genéticamente inactivado de la toxina (por
25 ejemplo, CRM197, u otros mutantes tal como se describe en los

documentos US 4.709.017, US 5.843.711, US 5.601.827, y US 5.917.017). En una realización, el toxoide de la difteria de la invención puede estar adsorbido sobre una sal de aluminio tal como hidróxido de aluminio. En otra realización, el toxoide de la difteria de la invención
5 puede estar adsorbido sobre una sal de aluminio tal como fosfato de aluminio. En una realización adicional el toxoide de la difteria puede estar adsorbido sobre una mezcla de ambos: hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio. Los kit o vacunas combinadas de la invención habitualmente comprenden DT a una dosis de entre 10-120 µg, 50-100 µg, 70-100 µg o
10 80-95 µg.

El antígeno del tétanos de la invención es habitualmente un toxoide del tétanos. Los procedimientos de preparar los toxoides del tétanos (TT) son notorios en la técnica. En una realización se produce TT mediante purificación de la toxina a partir de un cultivo de *Clostridium*
15 *tetani* seguido de inactivación química, pero de forma alternativa se prepara mediante purificación de un análogo recombinante, o genéticamente inactivado de la toxina (por ejemplo, tal como se describe en el documento EP 209281). Puede usarse cualquier toxoide del tétanos adecuado. 'Toxoide del tétanos' puede comprender fragmentos
20 inmunógenos de la proteína de longitud completa (por ejemplo el Fragmento C – véase el documento EP 478602). En una realización, el toxoide del tétanos de la invención puede estar adsorbido sobre una sal de aluminio tal como hidróxido de aluminio. En otra realización, el toxoide del tétanos de la invención puede estar adsorbido sobre una sal de
25 aluminio tal como fosfato de aluminio. En una realización adicional el

toxoides del tétanos puede estar adsorbido sobre una mezcla de ambos: hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio. Los kits o vacunas combinadas de la invención habitualmente comprenden TT a una dosis de entre 10-60 µg, 20-50 µg o 30-48 µg.

- 5 El componente de tos ferina de la invención puede ser acelular (Pa) en el que se usan antígenos de tos ferina purificados o con células enteras (Pw) en el que se usa la bacteria de la tos ferina completa inactivada como componente de tos ferina.

- La Pa de la invención puede estar formada por uno o más de los
 10 siguientes: toxoide de la tos ferina (PT), hemaglutinina filamentosa (FHA), pertactina (PRN), aglutinógenos fimbriales FIM2 y FIM3. En particular puede comprender PT, FHA, PRN, FIM2 o FIM3, o de PT+FHA, PT+PRN, PT+FIM2, PT+FIM3, FHA+PRN, FHA+FIM2, FHA+FIM3, PRN+FIM2, PRN+FIM3 o FIM2+FIM3, o de PT+FHA+PRN,
 15 PT+FHA+FIM2, PT+FHA+FIM3, PT+PRN+FIM2, PT+PRN+FIM3, PT+FIM2+FIM3, FHA+PRN+FIM2, FHA+PRN+FIM3, FHA+FIM2+FIM3 o PRN+FIM2+FIM3, o de PT+FHA+PRN+FIM2, PT+FHA+PRN+FIM3 o FHA+PRN+FIM2+FIM3, o de PT+FHA+PRN+FIM2+FIM3.

- Los kits o vacunas combinadas de la invención pueden
 20 comprender PT inactivado mediante un procedimiento notorio de tratamiento con formaldehído o mediante mutaciones (derivado de PT).

Se ha encontrado que las sustituciones de los restos dentro de la subunidad S1 de la proteína producen una proteína que mantiene sus propiedades inmunológicas y protectoras del PT, pero con una toxicidad

reducida o sin ella (documento EP 322533). Dichos mutantes pueden usarse a dosis inferiores a 20- 25µg.

En una realización de la invención, los componentes de Pa están presentes a dosis que se usan habitualmente en vacunas autorizadas (por ejemplo Infanrix®), tal como aproximadamente 25 µg de PT, 25 µg de FHA y 8 µg de PRN.

La Pw de la invención comprende de tos ferina en células enteras inactivadas. La Pw puede inactivarse por diversos procedimientos, que incluyen procedimientos sin mercurio. Dichos procedimientos pueden incluir inactivación térmica (por ejemplo 56 °C, 10 minutos), formaldehído (por ejemplo 0,1% a 37 °C, 24 horas), glutaraldehído (por ejemplo 0,05% a temperatura ambiente, 10 minutos), acetona-I (por ejemplo tres tratamientos a temperatura ambiente) y acetona-II (por ejemplo tres tratamientos a temperatura ambiente y cuarto tratamiento a 37 °C) (véase por ejemplo Gupta y cols., 1987, J. Biol. Stand. 15:87; Gupta y cols., 1986, Vaccine, 4:185). Los procedimientos de preparar *Bordetella pertussis* en células enteras inactivadas (Pw) adecuados para esta invención se describen en el documento WO 93 / 24148, al igual que los procedimientos de formulación adecuados para producir vacunas DT-TT-Pw-HepB. En el pasado se ha usado tiomersal en la preparación de *Bordetella pertussis* en células enteras inactivadas. Sin embargo, en una realización no se usa en el procedimiento de formulación de las vacunas de la presente invención.

Habitualmente se usa una dosis de Pw de 5-50 UOI, 7-40 UOI, 9-35 UOI, 11-30 UOI, 13-25 UOI, 15-21 UOI o aproximadamente o exactamente 20 UOI.

En una realización, el /los componente(s) de la tos ferina de la invención puede(n) estar adsorbido(s) sobre una sal de aluminio tal como hidróxido de aluminio. En otra realización, el componente de la tos ferina de la invención puede estar adsorbido sobre una sal de aluminio tal como fosfato de aluminio. En una realización adicional el componente de la tos ferina puede estar adsorbido sobre una mezcla de ambos:

10 hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio.

Componentes de la vacuna de IPV

La IPV de la invención puede comprender virus de la polio inactivado de tipo 1 (por ejemplo Mahoney o Brunhilde), de tipo 2 (por ejemplo MEF-1), o de tipo 3 (por ejemplo Saukett), o una combinación de

15 cualesquiera dos o de los tres tipos. Los kits o vacunas combinadas de la invención pueden comprender IPV de tipo 1 o IPV de tipo 2 o IPV de tipo 3, o IPV de tipos 1 y 2, o IPV de tipos 1 y 3, o IPV de tipos 2 y 3, o IPV de tipos 1, 2 y 3.

Los procedimientos de preparar poliovirus (IPV) inactivado son

20 notorios en la técnica. En una realización, IPV debería comprender los tipos 1, 2 y 3 tal como es habitual en la técnica de las vacunas, y puede ser la vacuna de la polio Salk que se inactiva con formaldehído (véase por ejemplo, Sutter y cols., 2000, *Pediatr. Clin. North Am.* 47:287; Zimmerman & Spann 1999, *Am Fam Physician* 59:113; Salk y cols.,

25 1954, *Official Monthly Publication of the American Public Health*

Association 44(5):563; Hennesen, 1981, Develop. Biol. Standard 47:139; Budowsky, 1991, Adv. Virus Res. 39:255).

En una realización el IPV no está adsorbido (por ejemplo antes de mezclar con otros componentes si están presentes). En otra realización, 5 el / los componente(s) de la IPV de la invención puede(n) estar adsorbido(s) sobre una sal de aluminio tal como hidróxido de aluminio (por ejemplo antes o después de mezclar con otros componentes si los hubiera). En otra realización, el / los componente(s) de IPV de la invención puede(n) estar adsorbido(s) sobre una sal de aluminio tal como 10 fosfato de aluminio.

En una realización adicional el / los componente(s) de IPV de la invención puede(n) estar adsorbido(s) sobre una mezcla de ambos: hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio. Si están adsorbidos, el uno o más componentes de IPV pueden estar adsorbidos de forma separada o 15 juntos en una mezcla. La IPV puede estabilizarse mediante un procedimiento de secado particular tal como se describe en el documento WO2004 / 039417.

Los poliovirus pueden cultivarse en cultivo celular. El cultivo celular puede ser una línea celular VERO o PMKC, que es una línea 20 celular continua derivada de riñón de mono. Las células VERO de forma conveniente pueden ser microtransportadores cultivados. El cultivo de las células VERO antes y durante la infección vírica puede implicar el uso de material derivado de bovinos, tal como suero de ternero, y este material debería obtenerse a partir de fuentes que estén libres de

encefalitis espongiforme bovina (BSE). El cultivo también puede implicar materiales tales como hidrolizado de lactoalbúmina.

Después del cultivo, los viriones pueden purificarse usando técnicas tales como ultrafiltración, diafiltración, y cromatografía. Antes de
5 la administración a los pacientes, los virus deben inactivarse y esto puede lograrse mediante tratamiento con formaldehído.

Los virus pueden cultivarse, purificarse e inactivarse de forma individual y después combinarse proporcionando una mezcla granel para el uso en vacuna de IPV o para añadir a los antígenos de difteria y
10 tétanos a los componentes de la tos ferina para las vacunas que comprenden DTPw-IPV o DTPa-IPV.

Las dosis estándar de vacunas de polio actualmente tienden a contener 40 D unidades de antígeno de poliovirus de tipo 1 inactivado, 8 D unidades de antígeno de poliovirus de tipo 2 inactivado y 32 D
15 unidades de antígeno de poliovirus de tipo 3 inactivado (por ejemplo Infanrix®-IPV™).

En una realización, una dosis de vacuna de IPV de la presente invención puede comprender 10-36 D unidades de antígeno de IPV de tipo 1.

20 En una realización, una dosis de vacuna de IPV de la presente invención puede comprender 2.7 D unidades de antígeno de IPV de tipo 2.

En una realización, una dosis de vacuna de IPV de la presente invención puede comprender 8-29 D unidades de antígeno de IPV de
25 tipo 3.

Antígeno de la hepatitis B

La preparación de antígeno superficial de la hepatitis B (HBsAg) está bien documentada. Véase por ejemplo, Hartford y cols., 1983, Develop. Biol. Standard 54:125, Gregg y cols., 1987, Biotechnology 5:479, documentos EP0226846, EP0299108. Puede prepararse de la forma siguiente. Un procedimiento implica purificar el antígeno en forma de partículas a partir de plasma de portadores crónicos de hepatitis B, dado que sintetizan grandes cantidades de HBsAg en el hígado y son liberadas al torrente sanguíneo durante una infección por HBV. Otro procedimiento implica expresar la proteína mediante procedimientos de recombinación de ADN. El HBsAg puede prepararse mediante expresión en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, *pichia*, en células de insecto (por ejemplo Hi5) o en células de mamífero. El HBsAg puede insertarse en un plásmido y su expresión en el plásmido puede controlarse mediante un promotor tal como el promotor "GAPDH" (a partir del gen de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa). La levadura puede cultivarse en un medio de síntesis.

El HBsAg después puede purificarse mediante un procedimiento que implica etapas tales como precipitación, cromatografía por intercambio iónico y ultrafiltración. Después de la purificación, el HBsAg puede someterse a diálisis (por ejemplo con cisteína). El HBsAg puede usarse en forma de partículas.

Tal como se usa en el presente documento la expresión "antígeno superficial de la hepatitis B" o "HBsAg" incluye cualquier antígeno de HBsAg o fragmento del mismo que presenta la capacidad de antígeno

del antígeno superficial de HBV. Se entenderá que además de la
secuencia de 226 aminoácidos del antígeno HBsAg S (véase Tiollais y
cols., 1985, Nature 317:489 y las referencias del mismo) HBsAg tal como
se describe en el presente documento puede, si se desea, contener todo
5 o parte de una secuencia de pre-S tal como se describe en las
referencias anteriores y en el documento EP0278940. En particular, el
HBsAg puede comprender un polipéptido que comprende una secuencia
de aminoácidos que comprende los restos 133-145 seguidos de los
restos 175-400 de la proteína L de HBsAg respecto al marco de lectura
10 abierto en un virus de la hepatitis B de serotipo ad (este polipéptido se
denomina L*; véase el documento EP0414374).

El HBsAg dentro del alcance de la invención también puede incluir
el polipéptido preS1-preS2 -S que se describe en el documento
EP0198474 (Endotronics) o sus análogos tal como los que se describen
15 en el documento EP0304578 (McCormick y Jones). HBsAg tal como se
describe en el presente documento también puede referirse a mutantes,
por ejemplo el "mutante de escape" que se describe en el documento
WO 91 / 14703 o EP0511855A1, especialmente HBsAg en el que la
sustitución del aminoácido de la posición 145 es una arginina por glicina.

20 El HBsAg puede estar en forma de partículas. Las partículas
pueden comprender por ejemplo proteína S sola o puede ser partículas
compuestas, por ejemplo L*, S) donde L* es tal como se define más
arriba y S denota la proteína S de HBsAg. Dicha partícula de forma
ventajosa está en la forma en la que se expresa en las levaduras.

En una realización, HBsAg es el antígeno que se usa en EngerixB® (GlaxoSmithKline Biologicals S.A.), que además se describe en el documento WO93 / 24148.

El antígeno superficial de la hepatitis B puede estar adsorbido
5 sobre fosfato de aluminio, lo que puede realizarse antes de mezclar con los otros componentes (se describe en el documento WO93 / 24148). El componente de la hepatitis B debería ser sustancialmente libre de tiomersal (el procedimiento de preparación de HBsAg sin tiomersal se ha publicado anteriormente en el documento EP1307473).

10 Los kits o vacunas combinadas de la invención pueden comprender HB a una dosis de aproximadamente 10 µg.

Antígeno(s) de *Haemophilus influenzae* b

Las vacunas que comprenden antígenos de *Haemophilus influenzae* de tipo b se han descrito en el documento WO97/00697. Las
15 vacunas de la invención pueden usar cualquier antígeno Hib adecuado. El antígeno puede ser sacárido capsular (PRP) de Hib conjugado o mezclado con una proteína transportadora. El sacárido es un polímero de ribosa, ribitol y fosfato. El antígeno Hib opcionalmente puede estar adsorbido sobre fosfato de aluminio tal como se describe en el
20 documento WO97/00697, o puede estar no adsorbido tal como se describe en el documento WO02/00249 o puede no haber sufrido un procedimiento específico de adsorción.

Por un antígeno que "no se ha adsorbido sobre una sal adyuvante de aluminio" en el presente documento se quiere decir que no está
25 implicada ninguna etapa de adsorción expresa o dedicada para el

antígeno sobre la sal adyuvante de aluminio fresca para la formulación de la composición.

Hib puede estar conjugado con cualquier transportador que puede proporcionar al menos un epítipo de linfocito cooperador T, y
5 puede ser toxoide del tétanos, toxoide de la difteria, proteína D u OMC de *N. meningitidis*.

Hib puede liofilizarse y puede reconstituirse de forma extemporánea (por ejemplo con diluyente, que opcionalmente comprende otros componentes antigénicos de las vacunas de la
10 invención).

En una realización, Hib está presente a una dosis baja (por ejemplo 1-6 µg, 2-4 µg o aproximadamente o exactamente 2,5 µg) tal como se describe en el documento WO 02/00249.

En una realización, los kits y vacunas combinadas de la invención
15 comprenden Hib a una dosis de aproximadamente 10 µg. En otra realización, los kits y vacunas combinadas de la invención pueden comprender Hib a una dosis de aproximadamente 2,5 µg.

Antígenos de *Neisseria meningitidis* de tipos A, B, C, W-135 o

Y

20 Los kits o vacunas combinadas de la invención pueden comprender uno o más sacáridos capsulares de una bacteria que se selecciona del grupo constituido por *N. meningitidis* de tipo A, *N. meningitidis* de tipo b, *N. meningitidis* de tipo C, *N. meningitidis* de tipo Y y *N. meningitidis* de tipo W-135 (en lo sucesivo denominado W).

En particular los kits o vacunas combinadas de la invención pueden comprender conjugado de sacáridos capsulares de *Neisseria meningitidis* de la cepa A, B, C, Y o W, o de las cepas A+B, A+C, A+Y, A+W, B+C, B+Y, B+W, C+Y, C+W o Y+W, o de las cepas A+B+C, 5 A+B+Y, A+B+W, A+C+Y, A+C+W, B+C+Y, B+C+W o C+Y+W, o de las cepas A+B+C+Y, A+B+C+Y, A+C+Y+W, B+C+Y+W o de las cepas A+B+C+Y+W.

En una realización, el /los componente(s) de *Neisseria meningitidis* de la invención puede(n) estar adsorbido(s) sobre una sal de 10 aluminio tal como hidróxido de aluminio. En otra realización, el /los componente(s) de *Neisseria meningitidis* de la invención puede(n) estar adsorbido(s) sobre una sal de aluminio tal como fosfato de aluminio. En una realización adicional el / los componente(s) de *Neisseria meningitidis* de la invención puede(n) estar adsorbido(s) sobre una mezcla de ambos: 15 hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio. En una realización el/los componente(s) de *Neisseria meningitidis* pueden no estar adsorbidos sobre un adyuvante, por ejemplo una sal adyuvante de aluminio.

Antígeno(s) de *Streptococcus pneumonia*

Los kits o vacunas combinadas de la invención pueden 20 comprender una vacuna que confiere protección contra la infección por *Streptococcus pneumoniae*. Dicha vacuna habitualmente comprende sacáridos de 7, 8, 9, 10, 11, 13 o más serotipos de *Streptococcus pneumoniae* o pueden comprender sacáridos los 23 serotipos de *Streptococcus pneumoniae* conocidos. Ejemplos de vacunas de

Streptococcus pneumoniae incluyen Prevnar® y Synflorix®, que se describen en la sección de las definiciones.

En una realización, el /los componente(s) de *Streptococcus pneumoniae* de la invención puede(n) estar adsorbido(s) sobre una sal de aluminio tal como hidróxido de aluminio. En otra realización, el /los componente(s) de *Streptococcus pneumoniae* de la invención puede(n) estar adsorbido(s) sobre una sal de aluminio tal como fosfato de aluminio. En una realización adicional el / los componente(s) de *Streptococcus pneumoniae* de la invención puede(n) estar adsorbido(s) sobre una mezcla de ambos: hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio. En una realización el/los componente(s) de *Streptococcus pneumoniae* pueden no estar adsorbidos sobre un adyuvante, por ejemplo una sal adyuvante de aluminio.

Conjugados

Los conjugados bacterianos de sacáridos capsulares de la invención pueden comprender cualquier péptido, polipéptido o proteína transportadores que comprenden al menos un epítipo de linfocito T cooperador. La(s) proteína(s) transportadora(s) que se usa(n) puede(n) seleccionarse del grupo constituido por: toxoide del tétanos, toxoide de la difteria, CRM (que incluye CRM197, CRM176, CRM228, CRM 45, CRM 9, CRM 45, CRM102, CRM 103 y CRM107), toxina de la difteria recombinante (tal como se describe en cualquiera de los documentos US 4.709.017, WO 93/25210, WO 95/33481, o WO 00/48638), neumolisina (opcionalmente inactivada químicamente, o un mutante inactivado) de *S. pneumoniae* (véase por ejemplo el documento WO 04/081515 y las

referencias incluidas en él), OMPC de *N. meningitidis* (documento EP 0372501), y proteína D (PD) de *H. influenzae* (documento EP 594610). Otros transportadores pueden incluir péptidos sintéticos (documentos EP 0378881; EP 0427347), proteínas de choque térmico (documentos WO 93/17712; WO 94/03208), proteínas de tos ferina (documentos WO 98/58668; EP 0471177), citocinas (documento WO 91/01146), linfocinas (documento WO 91/01146), hormonas (documento WO 91/01146), factores de crecimiento (documento WO 91/01146), proteínas artificiales que comprenden múltiples CD4 humano + epítomos de linfocitos T de
 5 diversos antígenos derivados de patógenos (Falugi y cols., 2001, Eur. J. Immunol. 31:3816), proteína superficial de neumococo PspA (documento WO 02/091998), proteínas de captación de hierro (documento WO 01/72337), toxina A o B de *C. difficile* (documento WO 00/61761), PhtD de neumococo (documento WO 00/37105), PhtDE de neumococo (por
 10 ejemplo documentos WO 01/98334 & WO 03/054007), PhtX, etc.

Los sacáridos pueden estar todos en el mismo transportador, en particular todos los sacáridos de un organismo particular, por ejemplo los sacáridos MenA, MenC, MenW y MenY pueden estar todos conjugados con TT, DT o CRM-197. Sin embargo, debido al conocido efecto de
 20 supresión del transportador, puede ser ventajoso si en cada una de las composiciones de la invención los antígenos de sacáridos contenidos en ellos (antígenos 'n') están conjugados con más de un transportador. Así, (n-1) de los sacáridos podría transportarse (por separado) en un tipo de transportador, y 1 en un transportador diferente, o (n-2) en uno, y 2 en
 25 dos transportadores diferentes, etc. por ejemplo, en una vacuna que

contiene 4 conjugados de sacáridos bacterianos, 1, 2 o los cuatro podrían estar conjugados con transportadores diferentes). La proteína D, sin embargo, puede usarse para diversos (2, 3, 4 o más) sacáridos en una composición sin un marcado efecto de supresión del transportador.

- 5 Hib puede estar presente en forma de conjugado con TT, DT o CRM197, y MenA, MenC, MenY y MenW puede estar conjugados con TT, DT, CRM197 o PD. Vi puede estar presente en forma de un conjugado con TT, DT o CRM197. La proteína D es un transportador de utilidad ya que proporciona un antígeno adicional que puede proporcionar protección
- 10 contra H. influenzae. En una realización, todos los sacáridos están conjugados con la misma proteína transportadora.

Vi puede estar conjugado con una proteína transportadora por ejemplo mediante un procedimiento usando reacciones de condensación de carbodiimida (por ejemplo EDAC) (siempre que la subunidad de repetición Vi comprenda grupos ácido carboxílico). Esto podría lograrse o

15 bien mediante (i) una única reacción de carbodiimida entre COOH de Vi y NH₂ de la proteína o (ii) una doble reacción de carbodiimida que puede producirse entre COOH de Vi y NH₂ de una molécula enlazadora homobifuncional y COOH de proteína y NH₂ de la molécula enlazadora

20 homobifuncional, o entre COOH de Vi y NH₂ de la molécula enlazadora heterobifuncional y NH₂ de proteína y COOH de la molécula enlazadora heterobifuncional.

La conjugación puede usarse junto con proteína(s) transportadora(s) libre(s). En una realización, cuando una proteína

25 transportadora dada está presente tanto en forma libre como conjugada

en una composición de la invención, la forma no conjugada no es más del 5% de la cantidad total de la proteína transportadora en la composición en total, o en otra realización está presente a menos del 2% en peso.

5 El sacárido puede ligarse a la proteína transportadora mediante cualquier procedimiento conocido (por ejemplo, de Likhite, patente de Estados Unidos 4.372.945 y de Armor y cols., patente de Estados Unidos 4.474.757), con cualquier enlazador adecuado cuando sea necesario.

El sacárido habitualmente se activará o funcionalizará antes de la
10 conjugación.

La activación puede implicar, por ejemplo, agentes de cianilación tales como CDAP (tetrafluoroborato de 1-ciano-dimetilaminopiridinio) (documentos WO 95/08348 & WO 96/29094). La reacción de cianilación puede realizarse en condiciones relativamente suaves, que eviten la
15 hidrólisis de los sacáridos sensibles a las condiciones alcalinas. Esta síntesis permite el acoplamiento directo a una proteína transportadora. Otras técnicas adecuadas usan carbodiimidas, hidrazidas, ésteres activos, norbornano, ácido p-nitrobenzoico, N-hidroxisuccinimida, S-NHS, EDC o TSTU.

20 Los enlaces mediante un grupo enlazador puede realizarse usando cualquier procedimiento conocido, por ejemplo, los procedimientos que se describen en los documentos US 4.882.317 y US 4.695.624. Un tipo de enlace implica la aminación reductora del sacárido, acoplamiento de grupo amino resultante con un extremo del grupo
25 enlazador de ácido adípico (documento EP 0477508, Porro y cols., 1985,

Mol. Immunol. 22:907, documento EP 0208375), y después acoplamiento de una proteína al otro extremo del grupo enlazador de ácido adípico.

Otros enlazadores incluyen B-propionamido (documento WO 00/10599), nitrofenil-etilamina (Gever y cols., 1979, Med. Microbiol. Immunol. 165:171), haluros de haloacilo (documento US 4.057.685), enlaces glucosídicos (documentos US 4.673.574; US 4.761.283; US 4.808.700), ácido 6-aminocaproico (documento US 4.459.286), ADH (documento US 4.965.338), restos de C4 a C12 (documento US 4.663.160), etc. Como alternativa al uso de un enlazador, puede usarse un enlace directo. Los enlaces directos a la proteína pueden comprender la oxidación del sacárido seguida de aminación reductora con la proteína, tal como se describe, por ejemplo en los documentos US 4.761.283 y US 4.356.170 o una reacción de CDAP directa.

Después de la conjugación, pueden separarse los sacáridos libres y conjugados. Existen muchos procedimientos adecuados para esta separación, que incluyen cromatografía hidrófoba, ultrafiltración tangencial, diafiltración, etc (véase también Lei y cols., 2000, Dev Biol. (Basel). 103:259; documentos WO 00/38711; US 6.146.902). En una realización, si una vacuna comprende un sacárido dado tanto en forma libre como conjugada, la forma no conjugada no representa más del 20% en peso de la cantidad total de ese sacárido en la composición total (por ejemplo $\leq 15\%$, $\leq 10\%$, $\leq 5\%$, $\leq 2\%$, $\leq 1\%$).

La cantidad de sacárido que es capaz de conferir protección a un huésped (una cantidad eficaz) puede ser determinada por la persona experta. En una realización, cada dosis comprenderá 0,1-100 μg de

sacárido, en otra realización cada dosis comprenderá 0,1-50 µg, en una realización adicional cada dosis comprenderá 0,1-10 µg, todavía en otra realización cada dosis comprenderá de 1 a 5 µg.

Adyuvantes

- 5 Los kits y vacunas combinadas de la invención pueden incluir un excipiente farmacéuticamente aceptable tal como un adyuvante adecuado. Los adyuvantes adecuados incluyen una sal de aluminio tal como hidróxido de aluminio o fosfato de aluminio, pero también puede ser una sal de calcio, hierro o zinc, o puede ser una suspensión insoluble
- 10 de tirosina acilada, o azúcares aciladas o pueden ser sacáridos derivados de forma catiónica o aniónica, polifosfazenos, microesferas biodegradables, monofosforil lípido A (MPL), derivados de lípido A (por ejemplo de toxicidad reducida), MPL 3-O-desacilada, quil A, Saponina, QS21, adyuvante incompleto de Freund (Difco Laboratories, Detroit, MI),
- 15 adyuvante 65 de Merck (Merck y Company, Inc., Rahway, NJ), AS-2 (Smith-Kline Beecham, Filadelfia, PA), oligonucleótidos CpG, bioadhesivos y mucoadhesivos, micropartículas, liposomas, formulaciones de éter de polioxietileno, formulaciones de éster de polioxietileno, péptidos de muramilo o compuestos de imidazoquinolona
- 20 (por ejemplo imiquamod y sus homólogos). También pueden usarse como adyuvantes los inmunomoduladores humanos adecuados para usar como adyuvantes en la invención incluyen citocinas tales como interleucinas (por ejemplo IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12, etc.), factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF), factor de

necrosis tumoral (TNF), granulocitos, factor estimulador de colonias de macrófagos (GM-CSF).

En una realización de la invención, la composición adyuvante de las formulaciones induce una respuesta inmunitaria predominantemente del tipo TH1. Los niveles elevados de citocinas de tipo TH1 (por ejemplo IFN- γ , TNF- α , IL-2 y IL-12) tienden a favorecer la inducción de las respuestas inmunitarias mediadas por células contra un antígeno administrado. En una realización, en la que la respuesta es predominantemente de tipo TH1, el nivel de las citocinas de tipo TH1
10 aumentará en mayor grado que el nivel de las citocinas de tipo TH2. Los niveles de estas citocinas pueden evaluarse fácilmente usando ensayos estándar. Para una revisión de las familias de citocinas, véase Mosmann y Coffman, 1989, Ann. Rev. Immunol. 7:145.

Por consiguiente, los sistemas de adyuvantes adecuados que
15 promueven predominantemente una respuesta de TH1 incluyen, derivados de lípido A (por ejemplo de toxicidad reducida), Monofosforil lípido A (MPL) o un derivado del mismo, en particular monofosforil lípido A 3-des-O-acilado (3D-MPL), y una combinación de monofosforil lípido A, opcionalmente de monofosforil lípido A 3-des-O-acilado con una sal de
20 aluminio. Un sistema mejorado implica la combinación de un monofosforil lípido A y un derivado de saponina, en particular la combinación de QS21 y 3D-MPL tal como se describe en el documento WO 94/00153, o una composición menos reactógena, en la que el QS21 se inactiva con colesterol tal como se describe en el documento WO 96/33739.

Una formulación adyuvante particularmente potente que implica QS21, 3D-MPL y tocoferol en una emulsión de aceite en agua se describe en el documento WO 95/17210. La vacuna además puede comprender una saponina, que puede ser QS21. La formulación también
 5 puede comprender una emulsión de aceite en agua y tocoferol (documento WO 95/17210). Los oligonucleótidos que contienen CpG no metilado (documento WO 96/02555) también son inductores preferenciales de una respuesta TH1 y son adecuados para usar en la presente invención.

10 Las vacunas de la invención también pueden comprender combinaciones de aspectos de uno o más de los adyuvantes que se identifican más arriba.

Las proporciones entre $\text{Al}(\text{OH})_3$ y AlPO_4 pueden ser 0 / 115, 23 / 92, 69 / 46, 46 / 69, 92 / 23 o 115 / 0.

15 De forma alternativa ciertos componentes de las vacunas de la invención puede estar adsorbidos de forma no expresa sobre el adyuvante, en particular sales de aluminio.

IPV puede estar adsorbido sobre $\text{Al}(\text{OH})_3$, DT puede estar adsorbido sobre $\text{Al}(\text{OH})_3$ o AlPO_4 , TT puede estar adsorbido sobre
 20 $\text{Al}(\text{OH})_3$ o AlPO_4 , Pw puede estar adsorbido sobre AlPO_4 , PRN puede estar adsorbido sobre $\text{Al}(\text{OH})_3$, HB puede estar adsorbido sobre AlPO_4 , Hib puede estar adsorbido sobre AlPO_4 o no adsorbido, Men ACWY puede estar adsorbido sobre $\text{Al}(\text{OH})_3$ o AlPO_4 o no adsorbido, MenB puede estar adsorbido sobre $\text{Al}(\text{OH})_3$ o AlPO_4 o no adsorbido, Vi puede

estar adsorbido sobre Al(OH)_3 o AlPO_4 o no adsorbido, HepA puede estar adsorbido sobre Al(OH)_3 o AlPO_4 .

Los antígenos que se preadsorben sobre una sal de aluminio pueden preadsorberse de forma individual antes de mezclar. En otra
5 realización, una mezcla de antígenos puede ser preadsorbida antes de mezclar con adyuvantes adicionales. En una realización, IPV puede ser adsorbido de forma separada o en forma de una mezcla de IPV de tipos 1, 2 y 3.

El significado de "antígeno adsorbido" se toma como que significa
10 adsorbido en más del 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, o 90%.

El significado de los términos "fosfato de aluminio" e "hidróxido de aluminio", tal como se usan en el presente documento incluye todas las formas de hidróxido de aluminio o de fosfato de aluminio que son adecuadas para adyuvantes de vacunas. Por ejemplo, el fosfato de
15 aluminio puede ser un precipitado de fosfato de aluminio insoluble (amorfo, semicristalino o cristalino) que puede prepararse opcional pero no exclusivamente mezclando sales de aluminio solubles y sales de ácido fosfórico. "El hidróxido de aluminio" puede ser un precipitado de hidróxido de aluminio insoluble (amorfo, semicristalino o cristalino) que
20 puede prepararse opcional pero no exclusivamente neutralizando una solución de sales de aluminio.

Particularmente adecuadas son las diversas formas de geles de hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio disponibles de fuentes comerciales por ejemplo, Alhidrogel (hidróxido de aluminio, suspensión al

3% en agua) y Adju-for (fosfato de aluminio, suspensión al 2% en solución salina) proporcionada por Superfos (Vedbeck, 2950 Dinamarca).

Componentes no inmunológicos de las vacunas de la invención

- 5 Las vacunas combinadas de la invención habitualmente, además de los componentes antigénicos y adyuvantes mencionados más arriba, comprenderán uno o más "transportadores o excipientes farmacéuticamente aceptables", que incluyen cualquier excipiente que no induce en sí la producción de anticuerpos dañinos para el individuo que
- 10 recibe la composición. Los excipientes adecuados son habitualmente macromoléculas grandes, de metabolización lenta tales como proteínas, sacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos, sacarosa (Paoletti y cols., 2001, Vaccine, 19:2118), trehalosa (documento WO 00/56365), lactosa y
- 15 agregados lipídicos (tales como gotículas de aceite o liposomas). Dichos transportadores son notorios para las personas de experiencia ordinaria en la técnica. Las vacunas también pueden contener diluyentes, tales como agua, solución salina, glicerol, etc. Además pueden estar presentes sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o
- 20 emulsionantes, sustancias tamponadoras del pH, y similares. La solución salina fisiológica tamponada con fosfato, apirógena y estéril es un transportador habitual. En la referencia Gennaro, 00, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20a edición, ISBN:0683306472 puede encontrarse una descripción exhaustiva de los excipientes
- 25 farmacéuticamente aceptables.

Las composiciones de la invención pueden estar liofilizadas o en forma acuosa, es decir en soluciones o suspensiones. Las formulaciones líquidas de este tipo permite que las composiciones se administren directamente a partir de su forma envasada, sin necesidad de reconstitución en un medio acuoso y, por lo tanto, son ideales para 5 inyectar. Las composiciones pueden presentarse en viales, o pueden presentarse en jeringas ya cargadas. Las jeringas pueden suministrarse con o sin agujas. Una jeringa incluirá una única dosis de la composición, mientras que un puede incluir una única dosis o dosis múltiples (por 10 ejemplo 2 dosis).

Las vacunas líquidas de la invención también son adecuadas para reconstituir otras vacunas a partir de una forma liofilizada. Cuando vaya a usarse una vacuna para dicha reconstitución improvisada, la invención proporciona un kit, que puede comprender dos viales, o puede 15 comprender una jeringa ya cargada y un vial, usando el contenido de la jeringa para reactivar el contenido del vial antes de la inyección.

Las vacunas combinadas de la invención pueden envasarse en forma monodosis o forma de dosis múltiples (por ejemplo 2 dosis). Para las formas de dosis múltiples, se prefiere que los viales sean jeringas 20 previamente cargadas. Los volúmenes de las dosis eficaces pueden establecerse de forma rutinaria, pero una dosis humana habitual de la composición inyectable tiene un volumen de 0,5 ml.

En una realización, las vacunas combinadas de la invención tienen un pH de entre 6,0 y 8,0, en otra realización vacunas de la 25 invención tienen un pH de entre 6,3 y 6,9, por ejemplo 6,6±0,2. Las

vacunas pueden tamponarse a este pH. El pH puede mantenerse estable usando un tampón. Si una composición comprende una sal de hidróxido de aluminio, puede usarse un tampón de histidina (documento WO 03/009869). La composición debería ser estéril y/o apirógena.

- 5 Las composiciones de la invención pueden ser isotónicas con respecto a los seres humanos.

Las vacunas combinadas de la invención pueden incluir un antimicrobiano, en particular cuando se envasan en un formato de dosis múltiples. Debería evitarse el tiomersal ya que provoca la precipitación
10 de componente IPV. Pueden usarse otros antimicrobianos, tales como 2-fenoxietanol.

Cualquier conservante preferiblemente está presente a niveles bajos. El conservante puede añadirse de forma exógena y/o puede ser un componente de los antígenos a granel que se mezclan para formar la
15 composición (por ejemplo presentes en forma de conservante en los antígenos de la tos ferina).

En una realización, las vacunas combinadas de la invención están libres de tiomersal o sustancialmente libres de tiomersal. Por libres de tiomersal o sustancialmente libres de tiomersal se quiere decir que no
20 hay suficiente tiomersal presente en la formulación final para que tenga un impacto negativo sobre la potencia del componente IPV. Por ejemplo, si se usa el tiomersal para el procedimiento de purificación de Pw o del antígeno superficial de la hepatitis B, debería eliminarse sustancialmente antes de mezclar con IPV. El contenido en tiomersal de la vacuna final
25 debería ser inferior a 0,025 µg/µg de proteína, 0,02 µg/µg de proteína,

0,01 µg/µg de proteína o 0,001 µg/µg de proteína, por ejemplo 0 µg/µg de proteína. En una realización, no se añade tiomersal ni se usa en la purificación de ningún componente. Véase por ejemplo el documento EP1307473 para la Hepatitis B y véase más arriba para los procedimientos de Pw en los que se logra la inactivación sin la presencia de tiomersal.

Las vacunas combinadas de la invención pueden comprender un detergente por ejemplo un Tween (polisorbato), tal como Tween 80. Los detergentes generalmente están presentes a niveles bajos por ejemplo

10 <0,01%.

Las vacunas combinadas de la invención pueden incluir sales de sodio (por ejemplo cloruro sódico) para proporcionar tonicidad. La composición puede comprender cloruro sódico. En una realización, la concentración de cloruro sódico en la composición de la invención está

15 en el intervalo de 0,1 a 100 mg/ml (por ejemplo 1-50 mg/ml, 2-20 mg/ml, 5-15 mg/ml) y en una realización adicional la concentración de cloruro sódico es 10 ± 2 mg/ml de NaCl por ejemplo aproximadamente 9 mg/ml.

Las vacunas combinadas de la invención generalmente incluirán un tampón. Es habitual un tampón de fosfato o histidina.

20 Las vacunas combinadas de la invención pueden incluir iones fosfato libres en solución (por ejemplo

mediante el uso de un tampón de fosfato) para favorecer la no adsorción de antígenos. La concentración de iones fosfato libres en la composición de la invención en una realización está entre 0,1 y 10,0 mM,

o en otra realización entre 1 y 5 mM, o en una realización adicional aproximadamente 2,5 mM.

Propiedades de las vacunas combinadas de la invención

En una realización las vacunas combinadas de la invención se formulan
5 en forma de una vacuna para la administración in vivo al huésped de tal modo que los componentes individuales de la composición se formulan de tal forma que la capacidad inmunógena de los componentes individuales no se ve sustancialmente perjudicada por otros componentes individuales de la composición. Por no sustancialmente
10 perjudicada, se quiere decir que tras la inmunización, se obtiene una valoración de anticuerpos contra cada componente que es más del 60%, 70%, 80% o 90%, o 95-100% de la valoración obtenida cuando el antígeno se administra por sí solo. Así, en realizaciones preferidas, no se produce un efecto (significativamente) perjudicial sobre los demás
15 componentes (en términos de eficacia protectora) en la combinación comparada con su administración por separado.

Formulaciones de vacuna

En una realización, las vacunas combinadas de la invención se formulan en forma de una vacuna para la administración in vivo al
20 huésped, de tal forma que confieran una valoración de anticuerpos superior al criterio de seroprotección para cada componente antigénico para un porcentaje aceptable de sujetos humanos. Esta es una prueba importante en la evaluación de la eficacia de una vacuna en una población. Los antígenos con una valoración de anticuerpos asociada
25 por encima de la cual se considere que un huésped se ha seroconvertido

contra el antígeno son notorios, y dichas valoraciones son publicadas por organizaciones tales como la OMS. En una realización, más del 80% de una muestra estadísticamente significativa de sujetos se seroconvierte, en otra realización más del 90% de una muestra estadísticamente significativa de sujetos se seroconvierte, en una realización adicional más del 93% de una muestra estadísticamente significativa de sujetos se seroconvierte y todavía en otra realización 96-100% de una muestra estadísticamente significativa de sujetos se seroconvierte.

La cantidad de antígeno en cada dosis de vacuna se selecciona como una cantidad que induce una respuesta inmunitaria sin efectos secundarios adversos sobre las vacunas habituales. Dicha cantidad variará dependiendo de los inmunógenos específicos que se empleen.

Generalmente, se espera que cada dosis comprenderá 1-1000 µg de inmunógeno total, o 1- 0 µg, o 1-40 µg, o 1-5 µg. Una cantidad óptima para una vacuna particular puede evaluarse mediante estudios que implican la observación de valoraciones de anticuerpos y otras respuestas en sujetos. Un ciclo de vacunación primaria puede incluir 2-3 dosis de vacuna, que se administran con un intervalo de uno a dos meses, por ejemplo siguiendo las recomendaciones de la OMS para la inmunización con DTP.

Envasado de las vacunas de la invención

Las vacunas combinadas de la invención pueden envasarse en diversos tipos de envases por ejemplo en viales, en jeringas, etc. Un vial multidosis habitualmente comprenderá un puerto de plástico que puede volver a sellarse a través del cual puede insertarse una aguja estéril para

extraer una dosis de vacuna, que se vuelve a sellar una vez se ha sacado la aguja.

La vacuna puede suministrarse en diversos envases (por ejemplo 2 ó 3). El contenido de los envases puede mezclarse de forma
5 extemporánea antes de administrar a un huésped en una única inyección o puede administrarse de forma concomitante en sitios diferentes. La dosis de la vacuna habitualmente será de 0,5 ml.

Los inventores sorprendentemente han encontrado que un kit suministrado del modo anterior presenta de forma ventajosa los diversos
10 antígenos al sistema inmunitario de un huésped de forma óptima. El kit proporciona al practicante médico un procedimiento óptimo de inmunizar a un huésped con una o más de las siguientes ventajas: eficacia protectora para todos los antígenos, capacidad reactógena mínima, mínima interferencia de supresión por el transportador, mínima
15 interferencia adyuvante / antígeno, o mínima interferencia antígeno / antígeno. De ese modo, estos objetivos pueden lograrse con el mínimo número (dos) de administraciones, que opcionalmente se producen en la misma visita al practicante.

En una realización las vacunas combinadas de los envases
20 primero y segundo se administran de forma concomitante en sitios diferentes (tal como se describe más adelante en "administración de vacunas de la invención"), y en una realización alternativa los inventores prevén que el contenido de los envases primero y segundo puede mezclarse (opcionalmente de forma extemporánea) antes de la
25 administración en forma de una única vacuna.

79

Preparación de las vacunas de la invención

La presente invención también proporciona un procedimiento para producir una formulación de vacuna que comprende la etapa de mezclar los componentes de la vacuna junto con un excipiente
5 farmacéuticamente aceptable.

En una realización de la presente invención se proporciona una vacuna tal como se describe en el presente documento para usar en un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedades provocadas por infección por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*,
10 *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, *Haemophilus influenzae* de tipo b, *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis*. Además, también se proporciona un procedimiento de inmunizar un huésped humano contra la enfermedad provocada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la
15 hepatitis B, *Haemophilus influenzae* de tipo b, *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis*, procedimiento que comprende administrar al huésped una dosis inmunoprotectora de la vacuna de la invención.

La cantidad de antígeno en cada dosis de vacuna se selecciona como una cantidad que induce una respuesta inmunitaria sin efectos
20 secundarios adversos sobre las vacunas habituales.

Dicha cantidad variará dependiendo del inmunógeno específico que se emplee y cómo se presente. En una realización, cada dosis comprenderá 0,1-100 µg de sacárido, en otra realización cada dosis comprenderá 0,1-50 µg, en una realización adicional cada dosis

comprenderá 0,1-10 µg, todavía en otra realización cada dosis comprenderá de 1 a 5 µg de sacárido.

En una realización, el contenido en antígenos proteínicos de la vacuna estará en el intervalo de 1- 100 µg, en otra realización el
5 contenido en antígenos proteínicos de las vacunas estará en el intervalo de 5-50 µg, en una realización adicional el contenido en antígenos proteínicos de las vacunas estará en el intervalo de 5 - 25 µg.

La preparación de vacunas se describe de forma general en Vaccine Design ["The subunit and adjuvant approach" (editores Powell
10 M.F. & Newman M.J.) (1995) Plenum Press Nueva York]. La encapsulación en liposomas se describe en Fullerton, patente de Estados Unidos 4.235.877. La conjugación de proteínas con macromoléculas se describe, por ejemplo en Likhite, patente de Estados Unidos 4.372.945 y en Armor y cols., patente de Estados Unidos
15 4.474.757. El uso de Quil A se describe en Dalsgaard y cols., 1977, Acta Vet Scand. 18:349. 3D-MPL está disponible en Ribi immunochem, EE. UU. y se describe en la solicitud de patente del Reino Unido n.º 2220211 y la patente de Estados Unidos 4.912.094. QS21 se describen en la patente de Estados Unidos 5.057.540.

20 En una realización la cantidad de conjugado por dosis de 0,5 ml de vacuna granel es inferior a 10 µg (de sacárido en el conjugado), en otra realización la cantidad de conjugado es 1-7, en otra realización la cantidad de conjugado es 2-6 µg, o en una realización adicional aproximadamente 2,5, 3, 4 ó 5 µg.

Se apreciará que ciertos componentes, por ejemplo los componentes de DTPw, pueden combinarse por separado antes de añadir los HBsAg adsorbidos u otros componentes.

También se proporciona un procedimiento de preparar vacunas combinadas de la invención que comprende la etapa de mezclar los antígenos con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Administración de las vacunas de la invención

La invención proporciona un procedimiento para suscitar una respuesta inmunitaria en un mamífero, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de una vacuna de la invención.

Las vacunas pueden administrarse de forma profiláctica (es decir para prevenir la infección) o de forma terapéutica (es decir para tratar la enfermedad después de la infección). La respuesta inmunitaria preferiblemente es protectora y preferiblemente implica anticuerpos. El procedimiento puede suscitar una respuesta de refuerzo.

Tras una vacunación inicial, los sujetos pueden recibir una o varias inmunizaciones de refuerzo espaciadas de forma adecuada. La pauta de tratamiento puede ser un calendario de dosis única o un calendario de dosis múltiples. Pueden usarse dosis múltiples en un calendario de inmunización primaria y/o en un calendario de inmunización de refuerzo. Un calendario de administración primaria, que puede ser durante el primer año de vida, puede seguirse con un calendario de dosis de refuerzo. El tiempo adecuado entre la dosis de sensibilización (por ejemplo entre 4-16 semanas), y entre la sensibilización y el refuerzo puede determinarse de forma rutinaria.

En una realización, el mamífero es un ser humano. Cuando la vacuna es para uso profiláctico, el ser humano es preferiblemente un niño (por ejemplo un niño menor de 2 años) o un adolescente; cuando la vacuna es para uso terapéutico, el ser humano preferiblemente un
5 adulto. Una vacuna destinada a los niños también puede administrarse a adultos por ejemplo para evaluar la seguridad, dosis, capacidad inmunógena, etc.

Las preparaciones de vacuna de la presente invención pueden usarse para proteger o tratar a un mamífero susceptible de infección,
10 administrando dicha vacuna directamente a un paciente. La administración directa puede lograrse mediante inyección parenteral (intramuscular, intraperitoneal, intradérmica, subcutánea, intravenosa o en el espacio intersticial de un tejido); o mediante administración rectal, oral, vaginal, tópica, transdérmica, intranasal, ocular, aural, pulmonar o a
15 otra mucosa. En una realización, la administración es mediante inyección intramuscular en el muslo o en la parte superior del brazo. La inyección puede ser mediante una aguja (por ejemplo una aguja hipodérmica), pero de forma alternativa puede usarse la inyección sin agujas. Una dosis intramuscular típica es de 0,5 ml.

20 Las infecciones bacterianas afectan a diversas áreas del cuerpo y así las composiciones de la invención pueden prepararse de diversas formas. Por ejemplo, las composiciones pueden prepararse en forma de inyectables, ya sea en forma de soluciones o suspensiones líquidas. La composición puede prepararse para la administración pulmonar por
25 ejemplo en forma de inhalador, usando un polvo fino o pulverización.

La composición puede prepararse en forma de supositorio o pesario. La composición puede prepararse para la administración nasal, aural o ocular por ejemplo en forma de pulverización, gotas , gel o polvo (véase por ejemplo Almeida & Alpar, 1996, J Drug Targeting, 3:455; 5 Bergquist y cols., 1998, APMIS, 6:800). La exitosa administración intranasal de vacunas de DTP se ha reseñado (Ryan y cols., 1999, Infect. Immun., 67:6270; Nagai y cols., 2001, Vaccine, 19:4824).

En una realización las vacunas de los envases primero y segundo (y tercero si lo hubiera) se administran de forma concomitante en sitios 10 diferentes, y en una realización alternativa los inventores prevén que el contenido de los envases primero y segundo puede mezclarse (opcionalmente de forma extemporánea) antes de la administración en forma de una única vacuna.

La invención puede usarse para provocar inmunidad sistémica 15 y/o de las mucosas.

Una forma de comprobar la eficacia del tratamiento terapéutico implica controlar la infección bacteriana tras la administración de la composición de la invención. Una forma de comprobar la eficacia del tratamiento profiláctico implica controlar las respuestas inmunitarias 20 contra los antígenos después de administrar la composición. La capacidad inmunógena de las composiciones de la invención puede determinarse administrándolas a sujetos de prueba (por ejemplo niños de 12-16 meses de edad, o a modelos animales – documento WO 01/30390) y después determinar los parámetros inmunológicos. Estas 25 respuestas inmunitarias generalmente se determinarán

aproximadamente 4 semanas después de administrar la composición, y se compararán con los valores determinados antes de administrar la composición. En lugar de evaluar la eficacia protectora real en pacientes, es notorio el uso de modelos animales estándar e in vitro y correlacionar la protección para evaluar la eficacia de las vacunas de DTP.

Todas las referencias que se citan y las publicaciones se incorporan por referencia al presente documento.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Resumen

La vacunación de bebés con combinaciones de DTPa-Hib (con o sin HBV e IPV) generalmente provoca que un alto porcentaje de bebés presenten concentraciones de anticuerpos contra PRP de $\geq 0,15 \mu\text{g/ml}$ de vacuna contra PRP, un criterio que está relacionado con un nivel alto de protección contra la enfermedad por Hib tras la inmunización. Recientemente se ha observado que la vacunación con DTPa3-Hib se asociaba con niveles de anticuerpos inusualmente bajos en el Reino Unido, y esto se asociaba a casos de infección más leve con Hib. Aunque generalmente se cree que la ausencia de refuerzo durante los primeros años es un factor clave para explicar el menor control de la enfermedad por Hib, aquí se sugiere que la administración conjunta de conjugado MenC-CRM197 que coincidió con la introducción de DTPa3-Hib en el Reino Unido probablemente desempeñó un papel en las menores respuestas inmunitarias contra PRP. La combinación de las vacunas de DTPa3 con IPV parece aumentar la respuesta a algunos

antígenos, tales como hepatitis B y Hib. Dichas combinaciones de DTPa(HBV)IPV-Hib parecen no acusar el impacto por la administración conjunta de CRM197 en la respuesta contra Hib. Estas observaciones subrayan la necesidad de evaluar cuidadosamente las futuras vacunas pediátricas con conjugados debido a los posibles efectos de interferencia sobre los antígenos DTPa, HBV, IPV y Hib administrados conjuntamente, con atención particular a la hepatitis B y a Hib-TT.

Palabras clave: *Haemophilus influenzae* de tipo b, Hib, vacuna, inmunidad, interferencia, vacuna con conjugados, vacuna combinada, refuerzo, vacuna de polio inactivada (IPV)

Temas clave:

□ Las vacunas combinadas de Hib con base de DTPa son inmunógenas y eficaces en la prevención de la enfermedad por Hib. La protección se asocia a 1) la capacidad de inducir una elevada proporción de sujetos que alcanzan el nivel protector de anticuerpos de 0,15 µg tras la inmunización primaria; 2) aumento tanto en valoración como en calidad de los anticuerpos tras el refuerzo durante los primeros años; y 3) efectos de inmunidad colectiva que se observan principalmente tras el refuerzo durante los primeros años. No se han observado diferencias entre las diversas combinaciones de Hib-TT con base de DTPa disponibles comercialmente en cuanto a la proporción de sujetos que alcanzan el valor límite de 0,15 µg tras la vacunación primaria.

□ Durante el final de los años 90, se debilitó el efecto de una campaña inicial de puesta al día en el Reino Unido y disminuyó la inmunidad de la población contra Hib. El debilitamiento de la inmunidad

no se compensó con una dosis de refuerzo en el segundo año de vida y los fracasos con la vacuna con conjugados de Hib aumentaron a partir de 1999. Generalmente se cree que la ausencia de refuerzo es un factor clave que explica el menor control de Hib en el Reino Unido. Durante el

5 periodo de menor control de Hib, el Reino Unido cambió de DTPw-Hib a DTPa3-Hib, y se introdujo la inmunización pediátrica con MenC-CRM197 aproximadamente al mismo tiempo.

□ Los ensayos clínicos de las vacunas combinadas de Hib con base de DTPa administradas conjuntamente con vacunas que contenían

10 CRM197 indican efectos consistentes con la interferencia inespecífica en la respuesta de anticuerpos a PRP. En una situación de debilitamiento de la inmunidad de una población y de respuestas iniciales de la población que de forma consistente se situaban en el extremo inferior de anticuerpos contra PRP observados, las anormalmente bajas

15 concentraciones de anticuerpos inducidas por DTPa3-Hib administrado conjuntamente con MenC-CRM197 eran insuficientes para proporcionar una protección adecuada a algunos niños vacunados, lo que probablemente contribuía al aumento del número de fallos de la vacuna de Hib que se observaron mientras se usaba DTPa3-Hib.

20 □ Los ensayos clínicos con vacunas combinadas de DTPa3(HBV)IPV-Hib administradas conjuntamente con vacunas con conjugados MenC-CRM197 o 7vPCV-CRM197 no revelaron la interferencia inespecífica de la administración conjunta, lo que sugiere un efecto protector por parte, muy probablemente, de IPV. Los pocos

25 estudios mano a mano que comparaban las vacunas combinadas que

contenían Hib con y sin IPV demostraron unos niveles mayores de anticuerpos contra PRP y contra HB cuando IPV formaba parte de la combinación. Además, se encontró que la combinación de DTPa3- Hib, pero no la combinación de DTPa3-HBV-IPV-Hib indujo anticuerpos
 5 contra PRP con menor avidez que un conjugado de Hib cuando se administraba por separado. Esto puede explicar la susceptibilidad de DTPa3-Hib a la interferencia inespecífica del conjugado CRM197, mientras que DTPa3(HBV)IPV-Hib no es susceptible a ello o es menos susceptible.

- 10 □ Ya que se están evaluando números cada vez mayores de vacunas con conjugados tales como Hib-MenCY-TT, ACWY-DT, ACWY-CRM197, ACWY-TT, 10vPCV-proteína D y 13vPCV-CRM197 , para combinarse en los programas de vacunación de DTPa, HBV, IPV, Hib en
 15 bebés, es esencial que se realicen ensayos controlados de forma apropiada para evaluar las respuestas inmunitarias específicas antes de aplicarlas en un marco de sanidad pública.

Antecedentes: *Haemophilus influenzae* de tipo b

Se estima que cada año el *Haemophilus influenzae* de tipo b (Hib) provoca tres millones de enfermedades graves y provoca entre 400.000
 20 y 700.000 muertes en todo el mundo [1]. Antes de que hubiera vacunas con conjugados eficaces la incidencia de meningitis por Hib en niños de 0 a 4 años variaba en el intervalo de 32 a 60 por 100.000 observándose la mayor incidencia y tasas de mortalidad por caso (hasta el 30%) en los países en desarrollo [2]. Tras la introducción de la vacunación en bebés

con vacunas con conjugados de Hib, muchos países actualmente registran tasas de incidencia de meningitis bajas de <2 por 100.000.

El Hib es portado de forma asintomática en las vías respiratorias altas por hasta el 15% de los individuos [3], pero sólo una minoría de los individuos colonizados desarrollan una enfermedad invasiva grave. La enfermedad se produce por invasión de la bacteria del torrente sanguíneo a través del epitelio respiratorio, con diseminación al sistema nervioso central y otras zonas. La meningitis y la septicemia son los síndromes clínicos que se observan más frecuentemente, y también puede producirse epiglotitis, artritis, celulitis y osteomielitis.

Se cree que el polisacárido capsular (CP) es el más importante determinante de la virulencia de Hib debido a su interacción con el complemento que le permite eludir el sistema de defensa antibacteriano del huésped [4]. La capacidad del huésped de producir anticuerpos específicos contra CP desempeña un papel central en la defensa contra la mayoría de las bacterias encapsuladas [5]. Sin embargo las características de la respuesta inmunitaria al polisacárido (PS) son de desarrollo tardío en la ontogenia. Los polisacáridos en general, son deficientemente inmunógenos en los bebés hasta la edad de 18-21 meses, aunque algunos polisacáridos son capaces de inducir respuestas inmunitarias antes. Se cree que la zona marginal del bazo, de la que carecen los neonatos humanos, desempeña un papel importante en la iniciación y el desarrollo de una respuesta de anticuerpos a los polisacáridos independiente de los linfocitos T [6]. Las células dendríticas

de la zona marginal presentan antígenos CP a los linfocitos B de la zona marginal no recirculantes [7].

La zona marginal del bazo contiene linfocitos B relativamente maduros (positivos para el receptor de IL-2), IgM, IgD, superficiales y lo
5 más importante una densidad elevada de antígeno CD21, el receptor para el componente de complemento C3d que actúa de mediador de la activación de los linfocitos B [8]. Esto corresponde a las observaciones de que la capacidad inmunógena de las bacteria encapsuladas está relacionada con las propiedades de activación de complemento de su
10 cápsula PS, al escindir los productos de C3 en C3b y C3d e influir en la producción de anticuerpos contra PS al activar los linfocitos B [9,10]. Generalmente se cree que la sensibilización natural al portar las bacterias específicas o que presentan reactividad cruzada también es un componente esencial de la capacidad de responder a los polisacáridos
15 sencillos. Una vez el bebé ha respondido a la sensibilización natural, se hace posible la inmunización con polisacáridos sencillos.

Vacunas con polisacárido de Hib

El desarrollo de vacunas con CP de Hib comenzó durante los años 70 y se demostró una eficacia dependiente de la edad contra la
20 enfermedad invasiva, no observándose protección en niños vacunados de menos de 18 meses de edad [11]. Los bebés respondían de forma infrecuente a la vacuna con CP de Hib, con niveles de anticuerpos bajos y ningún indicio del desarrollo de memoria inmunológica [12]. Las respuestas inmunitarias mejoran después de los 18 meses de edad,
25 aunque los niños de 18-23 meses no responden tan bien como los de ≥ 2

años de edad. Los niveles de anticuerpos en adultos tras la vacunación se alcanzan para la edad de aproximadamente 6 años.

La principal limitación de vacunas con CP de Hib es su incapacidad de inducir una respuesta inmunitaria en bebés de <2 años de edad, la población en la que la enfermedad con Hib invasiva se produce más frecuentemente. Al igual que otras vacunas con PS las vacunas con CP de Hib no proporcionan ni protección a largo plazo, ni reducción en el transporte nasofaríngeo del organismo ni inmunidad colectiva. Para superar las deficiencias de la vacuna con CP de Hib, se desarrollaron vacunas mejoradas mediante conjugación química de CP de Hib poli-ribosa-ribitol-fosfato (PRP) con transportadores proteínicos dependientes de linfocitos T.

Vacunas con conjugados de Hib

El acoplamiento de PRP a un transportador proteínico permitió a los linfocitos B estimulados por PRP ser activados por los linfocitos T cooperadores, provocando respuestas en la infancia temprana de anticuerpos que maduraban con el tiempo, con inducción paralela de memoria de linfocitos B contra PRP. Desde entonces se han autorizado cuatro tipos de vacunas con conjugados de Hib con diferentes transportadores proteínicos: PRP conjugado con toxoide de la difteria (PRP-D), PRP conjugado con toxoide del tétanos (PRP-T), oligosacárido de Hib conjugado con CRM197 (una toxina no tóxica mutada de la difteria [la vacuna se denominaba también HbOC]) y PRP conjugado con complejo proteínico de la membrana externa de *Neisseria meningitidis* (PRP-OMP). Además de diferenciarse en la naturaleza de la proteína,

estas vacunas difieren en la longitud del polisacárido, el procedimiento de unión entre sacárido y proteína, y la proporción entre sacárido y proteína.

Las respuestas inmunitarias a todas las vacunas con conjugados de Hib difieren profundamente de aquellas contra CP nativo. Todas las vacunas con conjugados son muy inmunógenas en los adultos y se ha demostrado que son más inmunógenas que el simple CP de Hib en niños pequeños [14,15,16,17,18,19]. La revacunación con vacuna con conjugados o CP nativo induce respuesta de refuerzo [20] que son independientes del nivel de anticuerpos en el momento de la revacunación [15,18,19].

La respuesta de los anticuerpos y la distribución de las subclases de anticuerpo en los adultos no difiere tras la inmunización con conjugado de CP de Hib o con CP de Hib [21]. Los niños <2 años de edad muestran una respuesta predominantemente de IgG1 tanto a CP de Hib como a vacuna con conjugados de Hib, mientras que en los adultos se inducen tanto anticuerpos IgG1 como IgG2 [21]. Esta diferencia con la edad se debe a un retraso en la maduración de la respuesta de anticuerpos de subclase IgG2 que sólo alcanza los niveles de los adultos a los 8-12 años de edad [22]. Las grandes diferencias que se observan en los adultos con respecto a la distribución de las respuestas de IgG1 e IgG2 contra PRP se correlacionan con el nivel de anticuerpos naturales preexistentes, lo que sugiere que la sensibilización natural favorece una respuesta de IgG2 más tardía [23].

Comparada con la vacunación con CP de Hib, la vacunación de bebés con vacuna con conjugados de Hib aumenta la cantidad de anticuerpos IgG producida y aumenta la proporción entre IgG e IgM en la vacunación repetida. La predominancia de la subclase IgG1 aumenta
5 además tras la inmunización de refuerzo [24].

Vacunas con conjugados de Hib autorizadas

Aunque todas las vacunas con conjugados son inmunógenas en los niños pequeños, pueden observarse diferencias entre las vacunas con conjugados de Hib autorizadas en cuanto al nivel de anticuerpos que se
10 logra, la expresión del idiotipo, tiempo de respuesta de los anticuerpos que se desarrollan en los bebés y tasa de maduración de la avidez en función del tiempo [25].

Los estudios clínicos de vacunas con conjugados de Hib muestran una variación sustancial entre las vacunas en cuanto a la
15 magnitud de la concentración media geométrica (GMC) de anticuerpos post-vacunación lograda [26], siendo la menor GMC (0,28-0,73 µg/ml) tras tres vacunaciones con PRP-D en bebés 2 a 6 meses de edad [13,27,28]. El mantenimiento de los niveles protectores de anticuerpos también varía, mostrando un estudio niveles persistentes de anticuerpos
20 más altos tras la inmunización con PRP-T que con PRP-OMP [29]. PRP-OMP se caracteriza por mayores respuestas de anticuerpos tras la primera inmunización primaria que otras vacunas con conjugados, aunque las respuestas posteriores a la primaria y de refuerzo son menos pronunciadas que con PRP-T y Hib-CRM197 [28]. Esta respuesta
25 temprana sugiere una propiedad mitógena intrínseca de linfocitos B del

conjugado PRP-OMP además de la capacidad de activación de linfocitos T cooperadores [20].

En un estudio de tres vacunas autorizadas con conjugados de Hib, Hib-CRM197 generó los niveles más altos de IgG1 y la proporción
5 más alta entre IgG1 / IgG2 que PRP-D y PRP-OMP [30], reflejando los niveles de anticuerpos totales más altos inducidos por Hib-CRM197 [31]. En términos de actividad funcional, los anticuerpos contra PRP inducidos por las vacunas con conjugados de Hib, PRP-TT induce una mayor calidad de anticuerpos contra PRP que PRP-OMP [32,33]. Las cuatro
10 vacunas con conjugados de Hib se han evaluado en estudios de eficacia protectora (Tabla 1) a pesar de las muy marcadas diferencias en su perfil de capacidad inmunógena, todas han demostrado eficacia contra la enfermedad invasiva por Hib cuando se administran en al menos dos dosis a bebés, a excepción de PRP-D. Aunque muy eficaz en Finlandia,
15 PRP-D no fue capaz de proteger a los niños nativos de Alaska [34], en gran medida debido a la epidemiología única de la enfermedad por Hib en esta población, caracterizada por tasas elevadas de enfermedad que se producen muy temprano en la vida. Debido a la temprana y elevada respuesta de anticuerpos que se logra tras una única dosis de PRP-
20 OMP, PRP-OMP desde entonces se ha usado con éxito en Alaska, así como en otras poblaciones indígenas con epidemiología similar, tal como los aborígenes australianos.

Portadores e inmunidad colectiva

En los primeros años tras la introducción de la vacunación con
25 conjugado de Hib se observó un descenso en la carga de la enfermedad

que era desproporcionada con respecto a la población que se había vacunado. Después de la introducción de PRP-D en los Estados Unidos par niños > 18 meses de edad, la incidencia de la enfermedad por Hib disminuy'en niños < 18 meses que no habían sido incluidos en la
5 vacunación rutinaria [39]. Estos datos sugieren que la vacunación con conjugado de Hib no solo confiere protección a los niños de 2 años de edad y mayores sino que también disminuye la transmisión de Hib a bebés susceptibles no inmunizados [40,41].

Los niños inmunizados con vacunas con conjugados de Hib pero
10 no con vacuna con CP de Hib simple presentan un riesgo menor de colonización nasofaríngea de Hib que en los niños no vacunados [40,41,42,43]. Se sugiere que el mecanismo responsable es la presencia de anticuerpos contra CP de Hib en la mucosa nasofaríngea [44]. Parece que es necesaria una mayor concentración en suero de anticuerpos
15 contra PRP (3-7 µg/ml) para evitar la colonización que para prevenir la enfermedad invasiva [20], lo que sugiere que la mayoría de la inmunidad colectiva es inducida por el refuerzo durante los primeros años. En los adultos vacunados, los anticuerpos IgG contra PRP detectados en las secreciones nasofaríngeas y la saliva probablemente se derivan de
20 concentraciones elevadas de anticuerpos en suero [44].

Las concentraciones menores de anticuerpos en bebés vacunados 2-4 veces pero sin refuerzo se han asociado a una prevención menos completa del transporte [42,45,46]. Dado que los anticuerpos estarán altos sólo inmediatamente después de la

inmunización, la memoria inmunológica también puede desempeñar un papel en la prevención o acortamiento de la colonización.

Correlaciones serológicas de la protección

Los estudios de inmunización pasiva estimaron que las

5 concentraciones protectoras de anticuerpos contra CP de Hib están entre 0,05 y 0,15 $\mu\text{g/ml}$ [5]. Los ensayos de análisis de la eficacia usando vacunas con CP de Hib demostraron que el 90% de los bebés inmunizados a los 18-23 meses de edad todavía tenían anticuerpos contra CP de Hib $\geq 0,15 \mu\text{g/ml}$ un año y medio después de la vacunación,

10 lo que tiene correlación con la eficacia protectora observada [11,12]. Estos estudios establecieron una concentración de anticuerpos necesaria de 0,05-0,15 $\mu\text{g/ml}$ en el momento de exposición a la colonización para prevenir la enfermedad [47,48] que llevó al procedimiento estándar de expresar la seroprotección contra CP de Hib

15 en términos del porcentaje $\geq 0,15 \mu\text{g/ml}$. En el ensayo de eficacia de PRP simple finlandés, el porcentaje de niños >18 meses de edad con niveles de anticuerpos post-inmunización $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ tres semanas después de la inmunización reflejaba la eficacia que se observaba en ese grupo de edad. Dado que las concentraciones de anticuerpos

20 descendían después de la inmunización, se estimó que era necesaria una concentración post-vacunación de 1 $\mu\text{g/ml}$ para asegurar una concentración mínima de al menos 0,1 $\mu\text{g/ml}$ durante el año posterior.

Los niveles de anticuerpos contra PRP protectores a largo plazo que se derivan de los estudios de PS de Hib pueden sobrestimar la

25 concentración de anticuerpo contra PRP necesaria para la protección a

largo plazo tras la vacunación con conjugado de Hib debido a una mejor actividad funcional mejorada (isotipo y maduración de la avidéz) de los anticuerpos tras la vacunación repetida y generación de linfocitos B de memoria [47,49]. Las observaciones de los ensayos en campo de
5 vacunas con conjugados de Hib apoyan esta hipótesis, aunque la concentración exacta de anticuerpo en suero suficiente para conferir protección contra la enfermedad por Hib es difícil de definir dado que la actividad funcional de anticuerpos contra CP de Hib depende de la concentración, isotipo Ig y avidéz.

10 La Tabla 1 resume los ensayos de eficacia de la vacuna con conjugado de Hib en los que están disponibles los datos de eficacia protectora así como la capacidad inmunógena. En muchos estudios, la proporción de niños que superan el umbral protector putativo de 1 µg/ml tras la serie de inmunización primaria infraestimaron sustancialmente la
15 eficacia protectora demostrada. Por el contrario, la proporción de bebés que lograban concentraciones de anticuerpos contra PRP $\geq 0,15$ µg/ml reflejaban más fielmente las estimaciones de eficacia de la vacuna observada [13,49,50]. Dado que la calidad del anticuerpo contra PRP aumenta en función del tiempo tras la vacunación primaria [51], el nivel
20 protector del anticuerpo maduro puede, de hecho, ser menor de 0,15 µg/ml: en el entorno de 0,05 µg/ml [20,52].

Eskola y cols. (1990) [35] postularon que cualquier nivel de anticuerpos cuantificable en presencia de memoria es suficiente para la protección. En Finlandia, la eficacia protectora observada del 90% se
25 aproximaba más fielmente a la proporción de sujetos con

concentraciones de anticuerpos contra PRP post inmunización primaria $\geq 0,06 \mu\text{g/ml}$ (85%) en vez de $\geq 0,15 \mu\text{g/ml}$ (70%).

En total, aunque de 5% a 68 % de los niños vacunados con vacunas con conjugados de Hib no logran niveles de anticuerpos $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ tras la inmunización primaria (Tabla 1), casi todos ellos estaban sensibilizados para una respuesta de anticuerpos contra CP de Hib, evidenciada por la presencia de anticuerpo detectable tras la vacunación y están protegidos contra la enfermedad por Hib.

Actividad funcional de los anticuerpos contra PRP

Los anticuerpos contra PRP generados por las vacunas con conjugados de Hib son eficaces in vitro en pruebas tanto de opsonofagocitosis como bactericidas e in vivo mediante la inmunización pasiva de crías de rata tras la exposición a Hib [52,53]. La actividad de complemento de las fracciones IgG1 e IgG2 en adultos sanos varía cuando se exponen a Hib, aunque IgG1 es más activa en la mayoría [54]. Otros estudios han demostrado que es necesaria una mayor dosis de anticuerpo IgG2 contra PRP de baja avidéz para conferir protección en un modelo de crías de rata que con la IgG1 de mayor avidéz [33,55].

La avidéz de los anticuerpos contra PRP aumenta desde después de la inmunización primaria a la anterior al refuerzo tras la inmunización con conjugado [51,52] pero no aumenta mucho más después de una dosis de refuerzo en el segundo año de vida. La mayor avidéz y la memoria inducida probablemente explican porqué la protección contra la enfermedad por Hib sigue siendo alta incluso cuando un número considerable de niños demuestran concentraciones de anticuerpos

contra PRP < 0,15 µg/ml en los periodos anteriores al refuerzo. El aumento en avidez refleja el proceso de la hipermutación somática de los genes de refuerzo y la posterior selección de los linfocitos B resultantes de elevada afinidad que se producen en el centro germinal tras una
5 respuesta dependiente de linfocitos T [56]. En algunos estudios, se ha demostrado que existe una relación entre la mayor avidez de los anticuerpos y una función más eficaz de los anticuerpos [32,57]. La avidez de los anticuerpos parece estar correlacionada con la actividad bactericida [32] y se ha sugerido como marcador alternativo para la
10 memoria inmunológica [56].

Aunque la vacuna con conjugados de PRP-OMP induce un repertorio de anticuerpos diferentes con menor avidez y actividad antibactericida comparada con otras vacunas [32], se ha demostrado que PRP-OMP es eficaz. Esto indica que existe un nivel umbral con respecto
15 a la actividad antibacteriana de los anticuerpos contra CP de Hib. La importancia relativa de la actividad bactericida u opsonofagocítica en el mecanismo de defensa contra Hib en los seres humanos todavía es cuestionable. Únicamente de forma muy ocasional se encuentra la enfermedad por Hib en individuos con déficit del componente de
20 complemento terminal, mientras que este déficit está habitualmente asociado a la enfermedad por meningococos [58]. Los estudios de meningitis por Hib en ratones que carecen de C5 demostraron una capacidad normal de aclaramiento de Hib, mientras que en el caso de la carencia de C3, se observó un aclaramiento deficiente que indicaba que
25 la opsonofagocitosis es de importancia crítica. Prácticamente todos los

adultos normales parecen poseer capacidad opsonofagocítica, que depende de los anticuerpos contra CP de Hib mientras que aproximadamente la mitad de los adultos demuestran actividad bactericida [59].

5 **Vacunas de Hib con base de DTPa combinadas**

Tras la exitosa introducción de las vacunas autorizadas con conjugados de Hib que provocaron descensos rápidos e impresionantes tanto en los portadores de Hib como en la enfermedad invasiva por Hib, se produjeron vacunas de DTPw y de Hib con base de DTPa
 10 combinadas y se introdujeron en un gran número de países. La mezcla de vacunas con base de DTPa con PRP-T o Hib-CRM197 produce un menor porcentaje de bebés con concentraciones de anticuerpos contra PRP $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ y menores GMC de anticuerpos que cuando las vacunas se administran en sitios separados [60,61,62]. Sin embargo de forma
 15 importante, la proporción de bebés que logran concentraciones máximas de anticuerpos contra PRP $\geq 0,15 \mu\text{g/ml}$ no es diferente.

Se han desarrollado cuatro vacunas de Hib con base de DTPa combinadas diferentes: una usando Hib-CRM197 (ya no está disponible), y tres con base de Hib-TT, combinadas o bien con DTPa2 (2
 20 componentes de Pa [toxóide de la tos ferina-PT + hemaglutinina filamentosa-5 FHA]), DTPa3 (3-componente Pa [PT, FHA + pertactina-PRN]) o bien con DTPa5 (5 componentes de Pa [PT, FHA, PRN, Fimbriae-FIM2 + FIM3]) como pareja básica de DTPa, algunas veces con componentes adicionales de HBV y/o IPV. Las dos combinaciones de
 25 mayor uso DTPa3(HB)IPV-Hib (Infanrix® IPV+ Hib) y DTPa5-IPV-Hib

(Pentacel™ o Pediacel™) se han revisado recientemente [63]. Las combinaciones DTPa3 y DTPa5 inducen niveles de anticuerpos contra PRP comparables (Figuras 1 y 2), que son menores que con las vacunas de Hib administradas por separado. Un estudio publicado con Pentacel™ [70] no mostró diferencias entre Pentacel™ y Hib por separado. Todavía cuando se consideran los datos disponibles, la respuesta contra PRP se reduce tras la vacunación primaria con las vacunas de Pediacel™ y Pentacel™ combinadas con respecto a Hib administrada por separado [71, 72, 73]: tal como se observa para otras combinaciones de DTPa-Hib.

10 A pesar de las menores concentraciones de anticuerpos contra PRP que se logran, las vacunas de Hib con base de DTPa combinadas se han adoptado extensamente y se ha demostrado que son muy eficaces en la prevención de la enfermedad. Los factores que contribuyen a la eficacia protectora de las combinaciones de Hib con base de DTPa fueron revisados por Eskola y otros en 1999 [13]. En
15 resumen, la inmunización con vacunas de Hib con base de DTPa combinadas o las vacunas con base de DTPa administradas de forma separada de Hib provocan que >95 % de los sujetos presenten niveles de anticuerpos que indican protección y memoria inmunitaria tras la
20 vacunación primaria ($\geq 0,15 \mu\text{g/ml}$).

Las respuestas de memoria inmunitaria similares que se desarrollan, evidenciadas por niveles similares de anticuerpos tras el refuerzo, cuando Hib se administra por separado o se mezcla con vacunas con base de DTPa, son consistentes con la observación de los
25 estudios de eficacia finlandeses de que que una respuesta de

anticuerpos detectables tras la vacunación primaria evidencia una sensibilización exitosa [35,74]. La actividad funcional de la vacuna con base de DTPa que se administra junto con vacunas de Hib ha sido demostrada en términos de avidez de los anticuerpos, actividad bactericida, protección pasiva in vivo en el modelo de rata y opsonofagocitosis [52,53]

La eficacia clínica de las combinaciones con base de DTPa-Hib en la prevención de la enfermedad por Hib se ha demostrado de forma concluyente en países con mecanismos de supervisión integrales tales como Alemania. En Alemania las vacunas de Hib con base de DTPa (PRP-T) se administran a los 2, 3 y 4 meses de edad con un refuerzo durante el segundo año de vida. Las vacunas de Hib con base de DTPa combinadas se han usado exclusivamente desde 1996 (1996: DTPa-Hib, 1998; DTPa-IPV-Hib, 2000; DTPa-HBV-IPV-Hib) con una eficacia continuada estimada de la vacuna de 96,7% tras la inmunización primaria [62,75].

Los estudios con vacunas combinadas de Hib con base de DTPw muestran mayores concentraciones de anticuerpos contra PRP tras la inmunización primaria que las combinaciones de Hib con base de DTPa, pero ambos regímenes muestran concentraciones elevadas de anticuerpos tras el refuerzo [76]. En los últimos años se han introducido las combinaciones de DTPa-(HBV)-IPV-Hib y su administración conjunta con vacunas de meningococos y neumococos con conjugados. Esto influye en la complejidad de las respuestas inmunitarias a los

componentes individuales y potencia el riesgo de posibles interferencias entre los diversos componentes.

Potenciación del efecto de la vacuna de poliovirus inactivada (IPV) en las vacunas combinadas de Hib con base de DTPa

- 5 Aunque se ha demostrado repetidamente que las vacunas combinada de DTPa-Hib muestran una actividad funcional comparable a la administración separada de vacuna con conjugados de Hib [13,52] existen indicios que sugieren que la presencia de IPV en algunas vacunas de Hib con base de DTPa combinadas modula la respuesta
- 10 inmunitaria inducida por el componente de conjugado de Hib.

- En un ensayo realizado en Suecia, se observó que las concentraciones de anticuerpos contra PRP eran estadísticamente significativamente más elevadas después de dos inyecciones intramusculares de PRP-T mezclado con DT-IPV que cuando se
- 15 mezclaban con DT solo [77] (Tabla 2). Durante un estudio clínico realizado en Alemania (1996-1998) se aleatorizó a los sujetos para que recibieran vacunación primaria a los 3, 4 y 5 meses de edad con diversas vacunas combinadas de Hib con base de DTPa3. Las concentraciones de anticuerpos contra PRP en sujetos que reciben vacunas que diferían
- 20 únicamente en la presencia o ausencia de IPV se presentan en la Tabla 2.(resultados no publicados previamente). Aunque no existen diferencias entre las vacunas que contienen IPV y no IPV30 en cuanto a la proporción de niños que alcanzan el límite de 0,15 µg/ml, los niveles de anticuerpos contra PRP fueron mayores (estadísticamente significativos
- 25 para DTPa3-HBV-Hib comparado con DTPa3-HBV-IPV-Hib) en sujetos

que recibían combinaciones de Hib con base de DTPa3 que contenían IPV. También se ha observado que las respuestas de anticuerpos a la hepatitis B son más elevadas en una combinación con DTPa-IPV comparadas con una combinación de DTPa sin IPV (5 Tabla 3) [80, 81].

- 5 No siempre se ha observado un efecto potenciador por parte de IPV en la respuesta contra PRP: en un estudio estadounidense, la administración conjunta de DTPa2-Hib (PRP-T) con IPV en inyecciones separadas se asoció a una menor respuesta contra PRP comparada con la administración conjunta con OPV [78]. Esto sugiere un efecto
- 10 inmunoestimulante / adyuvante cuando IPV es parte de la combinación de DT(Pa)Hib y que por lo tanto estará ausente si se administra IPV por separado.

- Se encontró que la aidez de los anticuerpos se reducía tras la vacunación primaria con DTPa3- Hib comparada con DTPa3 y Hib por
- 15 separado [53,76], un fenómeno que no se observa con combinaciones más grandes de Hib con base de DTPa3 que contienen IPV [52,53]. Los resultados de aidez en bebés que participaron en tres ensayos clínicos no muestran diferencias en la maduración de los anticuerpos contra PRP en la aidez entre las vacunas de DTPa3-HBV-IPV y Hib o entre las
- 20 vacunas de DTPa3-HBV-IPV-Hib y Hib con base de DTPw administradas de forma mezclada o separada (Tabla 4). Por el contrario existía una diferencia obvia entre la maduración de la aidez tras la vacunación primaria con DTPa3-Hib comparada con DTPa3-HBV-IPV-Hib con un índice de aidez menor antes y después de la dosis de refuerzo de
- 25 DTPa3-Hib comparada con las vacunas de DTPa3 y Hib administradas

de forma separada. No se observaron diferencias en la capacidad de protección contra la enfermedad tras la exposición a Hib en un ensayo de protección pasiva de crías de rata [53]. En un informe reciente Johnson y cols [76] también observaron una avidez reducida de los anticuerpos tras la vacunación de refuerzo con vacuna con conjugados de Hib tras la vacunación primaria con DTPa3-Hib comparada con DTPw-Hib. Globalmente, los datos disponibles sugieren que comparadas con las vacunas que contienen IPV, las vacunas sin IPV tal como DTPa3-Hib pueden tener una capacidad reducida de inducir anticuerpos contra PRP y maduración de la avidez, aunque no se altera la proporción de sujetos que alcanzan los niveles de anticuerpos contra PRP que indican la protección. Un reciente informe australiano sugirió que DTPa3-IPV producía respuestas más polarizadas a Th1 que incluían respuestas de IgG comparadas con DTPa3, lo que confirma la potencial actividad adyuvante de IPV [79].

Fallos de la vacuna con conjugados de Hib

Debido a que las vacunas con conjugados de Hib inducen memoria inmunitaria, anticuerpo funcionales y muestran efectos de inmunidad colectiva, los fallos de la vacuna sólo se han descrito ocasionalmente tras la vacunación primaria. Varios estudios han demostrado que algunos bebés vacunados con conjugados concentraciones de anticuerpos bajas o no detectables todavía estaban protegidos contra la enfermedad [35,39]. Este grado de protección superior al esperado se atribuyó en parte a la inmunidad colectiva. Sin embargo, también se atribuyó algún papel al efecto protector de la

sensibilización y la memoria, un efecto que fue evidente incluso en bebés muy pequeños que se vacunaron de acuerdo con calendarios tempranos y acelerados tales como el calendario de 2, 3, 4 meses que se emplea en el Reino Unido [13,82]. Por otra parte, el análisis de las respuestas de anticuerpos en niños que presentaban una infección invasiva de Hib en la era anterior a la vacuna o los que habían recibido vacunas con conjugados de Hib indicaba claramente que la memoria inmunitaria sola no era suficiente para proteger algunos individuos de la enfermedad invasiva [83,84]. Este ha sido el caso también tras la vacunación con conjugado de MenC en el Reino Unido [85]. Los recientes aumentos en los fallos de vacunas de Hib en el Reino Unido han generado un renovado interés por los efectos del calendario, tipo de vacuna, población y potenciales interferencias específicas de transportador o inespecíficas sobre la respuesta inmunitaria y los mecanismos de protección que confieren las vacunas con conjugados de Hib.

Interferencias en la respuesta inmunitaria a vacunas con conjugados de Hib

Las interferencias o potenciaciones específicas de transportador pueden explicarse mediante efectos específicos sobre los linfocitos T cooperadores y se describen adicionalmente más adelante. Las interferencias inespecíficas son menos fáciles de comprender. Las citocinas y los inhibidores de citocinas que producen los linfocitos T localmente en un nódulo linfático no son específicas de antígeno, y por lo tanto las respuestas inmunitarias activas contra un antígeno pueden interferir con las respuestas inmunitarias a otro antígeno que se

administra de forma simultanea en una combinación de vacunas que se administran en el mismo sitio [120]. Los efectos inespecíficos también pueden producirse cuando las vacunas administradas de forma concomitante que contienen componentes similares se aplican en una

5 serie de inmunizaciones, tal como en los calendarios pediátricos con DTPa y conjugados concomitantes que emplean toxoides de la difteria y/o del tétanos (DT / TT) como transportador. En esta última situación, los linfocitos T específicos para DT y/o TT pueden influir sobre las respuestas inmunitarias dado que los linfocitos T pueden haber viajado

10 alcanzando nódulos linfáticos de la región en la que se inyecta la vacuna administrada concomitantemente [121].

Fallos con la vacuna con conjugados de Hib en el Reino Unido

En el Reino Unido, la vacunación rutinaria contra Hib a los 2, 3 y 4

15 meses de edad usando DTPw-Hib, sin dosis de refuerzo se combinó inicialmente con una campaña de puesta al día para alcanzar a los niños de hasta 5 años de edad. La campaña tuvo mucho éxito y entre 1989 y 1992 en global la eficacia de la vacuna de DTPw-Hib (Hib-CRM197 o PRP-T) fue del 87,1% (IC del 95% 65,5%; 95,2%, [86]). En un estudio de

20 control de casos histórico la eficacia de la vacuna de DTPw-Hib de un 97,3% después de un año de edad se consideró que apoyaba la continuación de la política de no refuerzo empleada en el Reino Unido [87]. Sin embargo, usando el procedimiento de cribado más sensible, más tarde se hizo evidente que la eficacia de la vacuna de DTPw-Hib

25 después de dos años cayó desde el 71,7% (3,4%; 91,7%) durante la

- campaña de puesta al día a -17,0% (- 272%; 63,2%) en 1998-1999 [86]. Cada vez se informaba de más casos de fallos de la vacuna de Hib en niños >1 año de edad a partir de 1999 [88] y se exacerbaron entre 2000 y 2002 tras la sustitución de la vacuna de DTPw-Hib por DTPa3-Hib que
- 5 coincidió con la introducción y administración conjunta con la vacuna con conjugados MenC-CRM197 de *N. meningitidis* del serogrupo C. [89]. En respuesta al incremento en los fallos de la vacuna de Hib, se inició una segunda campaña de puesta al día en 2003 y todos los niños de entre 6 meses y 4 años recibieron una dosis de refuerzo de conjugado de Hib.
- 10 Actualmente se recomienda una dosis de refuerzo de vacuna de Hib con conjugados a los 12 meses de edad como parte del calendario rutinario [90].

- Existieron muchos eventos que provocaron el aumento que se observó en los fallos de la vacuna de Hib en el Reino Unido. Aunque es
- 15 tentador mantener que la falta de una dosis de refuerzo y la vacuna de DTPa3-Hib que se empleó como responsables únicos, la experiencia del Reino Unido con vacunas con conjugados de Hib ilustra cómo las vacunas combinadas muy eficaces pueden ser menos eficaces en algunas circunstancias.

20 **Efectos del calendario y refuerzo sobre la respuesta inmunitaria a vacunas con conjugados de Hib**

- La capacidad de las vacunas con conjugados de Hib de mantener un nivel mínimo de anticuerpos así como la inducción de memoria dió soporte a la idea de que no era necesaria una dosis de refuerzo para la
- 25 protección a largo plazo y posteriormente en el Reino Unido se adoptó

un calendario de inmunización sin un refuerzo en el segundo año de vida [91]. Muchos estudios han establecido ahora la importancia del refuerzo de Hib tras una serie de vacunación primaria para generar una protección a largo plazo contra la infección, la colonización y potenciación de la memoria inmunitaria [20,92,93,94]. La ausencia de una dosis de refuerzo se asoció a un aumento de la enfermedad por Hib [94] en Alemania y con una reducción de la prevención de la colonización por Hib [20].

En Alemania, se administran vacunas de Hib con base de DTPa (PRP-T) en el mismo calendario temprano y acelerado de 2, 3 y 4 meses que se usaba en el Reino Unido, pero se ha administrado una dosis de refuerzo durante el segundo año de vida desde 1996. No se ha reseñado ningún aumento en los fallos de la vacuna de Hib a pesar del uso exclusivo de las vacunas combinadas de Hib con base de DTPa [62,75]. Pueden extraerse muchas similitudes entre las vacunas con conjugado de Hib y las vacunas con conjugado de MenC, porque en el Reino Unido se ha hecho obvio muy pronto que la eficacia de las vacunas de MenC administradas en los primeros años disminuía rápidamente después del primer año en ausencia de una dosis de refuerzo [85].

La evaluación del efecto de la dosis de refuerzo en Alemania puede confundirse potencialmente por el hecho de que aunque DTPa3-Hib se usó ampliamente entre 1996 y 1998, las combinaciones de vacunas que se usan desde 1999 contienen IPV [62]. En las circunstancias habituales, los efectos potenciadores de IPV en la respuesta contra Hib probablemente serán mínimos a nivel de la

población: los indicadores de la protección (proporción $\geq 0,15$ $\mu\text{g/ml}$ [Figura 1] y protección en el modelo de exposición a Hib en crías de rata [53]) son similares tras la administración de combinaciones de DTPa3-Hib y de DTPa-Hib que contienen IPV. Por el contrario, el impacto de una dosis de refuerzo para reducir la colonización, aumentar las concentraciones de anticuerpos, mejorar la inmunidad colectiva y mejorar la respuesta inmunitaria en los niños sensibilizados de forma adecuada es sustancial a nivel de la población. El papel de IPV puede ser más importante para la inmunidad de la población en situaciones en las que la capacidad inmunógena de DTPa3-Hib por alguna razón se ve perjudicada y cuando no se administra una dosis de refuerzo – tal como se describe más adelante en el Reino Unido.

Vacuna de DTPa3-Hib

En el Reino Unido, tanto para las vacunas de Hib como de conjugado de MenC, los fallos ocasionales en la protección se han asociado a poblaciones cuyos niveles de base de anticuerpos contra CP tenían probabilidad de ser bajos comparados con los niveles que se considera que son protectores [85,95,96]. Dichos niveles bajos o incluso no detectables de anticuerpos específicos pueden hacer que un individuo sea susceptible a una rápida invasión antes de que la respuesta sensibilizada pueda hacer efecto.

Aunque no se ha observado en el Reino Unido, unas concentraciones de anticuerpo contra Hib menores pueden producir tasas más altas de colonización por Hib y una menor inmunidad

colectiva, aumentando así el riesgo de exposición para los niños inmunizados, parcialmente inmunizados e inmunocomprometidos.

La eficacia protectora de las vacunas de Hib con base de DTPa3 se ha demostrado y las concentraciones de anticuerpos contra PRP logradas tras la vacunación primaria con DTPa3-Hib, inclusive en el Reino Unido cuando se administra sin la administración conjunta de MenC-CRM197, están en el mismo intervalo que otras vacunas de combinaciones de Hib con base de DTPa3- y DTPa5 [63] (Figuras 1 y 2). Por lo tanto, las razones por las que la vacuna demostrablemente inmunógena de DTPa3-Hib que se usa en el Reino Unido exacerbó una tendencia subyacente de aumentar los crecientes fallos de la vacuna de Hib con conjugados requieren una evaluación cuidadosa. En un ensayo clínico realizado en el Reino Unido en 1996-1997, la respuesta contra PRP tras la vacunación primaria con DTPa3-Hib fue satisfactoria (GMC 1,56) y el 96,0% de los niños logró concentraciones de anticuerpos contra PRP $\geq 0,15$ $\mu\text{g/ml}$ (Tabla 5). De forma crucial, en la práctica la vacuna de DTPa3-Hib en el Reino Unido se administró conjuntamente con la vacuna de MenC-CRM197 durante 1999-2000, una administración conjunta que hasta la fecha no se ha evaluado en ensayos clínicos controlados.

Los posteriores estudios realizados en el Reino Unido sugieren con fuerza una interferencia inmunitaria de MenC-CRM197 (Meningitec™ Wyeth Lederle Vaccines, Pearl River NY) sobre las concentraciones de anticuerpos contra PRP (Tabla 5), con una marcada reducción de GMC de los anticuerpos contra PRP y una menor

proporción de sujetos que alcanzaban el límite de 0,15 µg en los sujetos del Reino Unido vacunados con DTPa3-Hib administradas conjuntamente con MenC-CRM197 [65,96] que el estudio en el que se administraba DTPa3-Hib solo. Cuando se analizaron muestras del estudio realizado por Slack y cols [96] en GlaxoSmithKline Biologicals, la GMC de anticuerpos contra PRP era de 0,54 µg/ml (IC del 95% 0,34; 0,59) comparada con 1,56 (1,19;2,04) en el estudio de 1996 sobre DTPa3-Hib, también realizado en el mismo laboratorio usando pruebas validadas (datos no publicados anteriormente). En un estudio en el que se administró DTPa3-Hib conjuntamente con Meningitec™ (MenC-CRM197) así como una vacuna neumocócica experimental 9-valente (9vPCV) que también use CRM197 como conjugado proteínico [65], el anticuerpo contra PRP GMC y la proporción de sujetos con concentraciones $\geq 0,15$ µg/ml (analizado en laboratorios del Reino Unido) también se encontró que eran excepcionalmente bajas (Figuras 1 y 2).

Las concentraciones de anticuerpos contra PRP y la maduración de la avidéz puede ser algo menor tras la sensibilización con DTPa3-Hib que con vacunas combinadas que contienen IPV [53]. Un estudio mano a mano con DTPa3-HBV-Hib comparada con DTPa3-HBV-IPV-Hib demostró significativamente concentraciones más elevadas de anticuerpos contra PRP tras la vacunación primaria con la vacuna que contenía IPV (Tabla 2). En los estudios clínicos, las vacunas combinadas de DTPa3-HBVIPV- Hib o DTPa5-IPV-Hib administradas conjuntamente con MenC-CRM197 (Meningitec™) en Alemania [67] y el Reino Unido [89,97] produjeron concentraciones de anticuerpos contra PRP similares

a las que se observaron usando DTPa-Hib solo. En particular, los resultados de estudios alemanes sobre DTPa3-HBV-IPV-Hib + MenC-CRM197 (Menjugate®, Chiron Emeryville, CA en [68] y Meningitec™ en [67]) en un calendario de 2-3-4 presentan un marcado contraste con el

5 estudio del Reino Unido sobre DTPa3-Hib + MenC-CRM197 (Meningitec™) administrado con el mismo calendario (GMC de anticuerpos contra PRP de 2,60 µg/ml [68]) o 2,78 µg/ml [67] comparadas con 0,54 µg/ml (Tabla 5), respectivamente. Estos datos sugieren que la presencia de IPV fue suficiente para enmascarar la

10 interferencia de CRM197 en la respuesta contra Hib. En línea con la observación de que la respuesta contra PRP puede potenciarse en presencia de IPV (Tabla 2), otros estudios controlados en España y Alemania en los que los bebés recibieron la vacuna DTPa3-HBV-IPV-Hib hexavalente con o sin MenC-CRM197 (Meningitec™) a los 2, 4 y 6

15 meses (España [98]) o 7vPCV-CRM197 a los 2, 3 y 4 meses (Alemania [99,100]) de edad no mostraron diferencias entre los grupos en la respuesta contra Hib con respecto a la proporción de sujetos con anticuerpos contra PRP $\geq 0,15$ µg/ml. En uno de los estudios [100] se encontró una menor proporción de sujetos que alcanzaban el límite de

20 1,0 µg/ml.

En un estudio canadiense cuando se administraban las vacunas DTPa5-IPV-Hib y 7vPCV-CRM197 de forma alternante con un mes de diferencia, la respuesta de anticuerpos contra PRP se redujo notablemente [102] (Figura 1, Figura 2). Además, se ha encontrado que

25 cuando se administraban conjuntamente DTPa2-HBV-IPV-Hib y 7vPCV-

CRM197 en Alemania, la respuesta contra la hepatitis B se reducía significativamente [103] ($p < 0,05$ prueba t bilateral): esto no se encontró cuando se administró conjuntamente DTPa3-HBV-IPV-Hib y 7vPCV-CRM197 [99].

- 5 Globalmente, existen indicios de peso, aunque indirectos, que sugieren que la presencia de IPV en las vacunas combinadas pentavalente y hexavalente evitaba en gran medida la interferencia que se observa entre las vacunas que contienen DTPa3-Hib y CRM197. Este efecto adyuvante (77) parece compensar en gran medida la interferencia
- 10 inespecífica relacionada con los conjugados de CRM197 cuando se administran conjuntamente con vacunas de Hib con base de DTPa (PRP-TT).

Sin embargo, parece evidente que los efectos de potenciación de la inmunidad de IPV pueden malograrse en ciertas circunstancias tales

15 como una administración alternante de vacunas que contienen CRM197 y que contienen Hib. Además, el efecto de CRM197 puede estar relacionado con la dosis, con una mayor interferencia cuando ambas vacunas, MenC-CRM197 y 7vPNC, se administran conjuntamente con Hib a la vez (Figura 1). A pesar de la presencia de IPV, DTPa2- HBV-

20 IPV-Hib demostró unas menores respuestas contra la hepatitis B cuando se administró conjuntamente con 7vPCV-CRM197.

Las interferencias o potenciaciones específicas de transportador pueden explicarse mediante efectos específicos sobre los linfocitos T cooperadores y se describen adicionalmente más adelante. Las

25 interferencias inespecíficas son menos fáciles de comprender. Las

citocinas y los inhibidores de citocinas que producen los linfocitos T localmente en un nódulo linfático no son específicas de antígeno, y por lo tanto las respuestas inmunitarias activas contra un antígeno pueden interferir con las respuestas inmunitarias a otro antígeno que se

5 administra de forma simultanea en una combinación de vacunas que se administran en el mismo sitio (Insel, 1995, Ann. NY Acad. Sci 754, 35). Los efectos inespecíficos también pueden producirse cuando las vacunas administradas de forma concomitante que contienen componentes similares se aplican en una serie de inmunizaciones, tal

10 como en los calendarios pediátricos con DTPa y conjugados concomitantes que emplean toxoides de la difteria (DT) o del tétanos (TT) como transportador. En esta última situación, los linfocitos T específicos para DT y/o TT pueden influir sobre las respuestas inmunitarias dado que los linfocitos T pueden haber viajado alcanzando

15 nódulos linfáticos de la región en la que se inyecta la vacuna administrada concomitantemente (Insel, 1995, Ann. NY Acad. Sci 754, 35).

La administración conjunta de múltiples vacunas con conjugados anteriormente ha producido efectos inesperados: se observaron

20 respuestas inmunitarias más elevadas contra PRP y TT pero respuestas reducidas contra MenC cuando PRP-T se administraba conjuntamente con MenC-TT [97]. A la inversa, cuando se administraba 4vPCV-TT conjuntamente con DTPw-PRP-T, se inhibían las respuestas inmunitarias tanto a TT como a Hib de un modo que era inversamente proporcional a

25 la dosis de TT recibida [104]. El mecanismo de potenciación o

interferencia específico de antígeno por TT posiblemente está en función de la actividad de los linfocitos T así como de la cantidad de proteína transportadora y polisacárido que se administra [105]. Un conjugado neumocócico 11-valente que contiene siete conjugados de TT demostró
 5 respuestas deficientes a los siete conjugados de TT cuando se administró conjuntamente con una combinación de DTPa-Hib comparada con una combinación de DTPw-Hib, lo que sugiere que las respuestas de los linfocitos T contra TT eran diferentes contra DTPa5-IPV-Hib que contra DTPw-IPV-Hib [105]. No se encontró este efecto para los cuatro
 10 conjugados de DT que se incluían en la 11vPCV.

Así, la potenciación o interferencia en la respuesta inmunitaria contra antígenos específicos puede estar mediada por efectos específicos sobre los linfocitos T así como por efectos "inespecíficos", lo que demuestra que las consecuencias de la administración conjunta de
 15 múltiple vacunas con conjugados sobre la respuesta inmunitaria son complejos y difíciles de predecir. La interferencia inespecífica relacionada con la administración conjunta con conjugados de CRM197 probablemente se refiere a mecanismos de regulación de linfocitos T específicos para el toxoide de la difteria que también está presente en
 20 las combinaciones de DTPa(HBV)(IPV)Hib-TT.

Factores ambientales y de población

El efecto de los factores ambientales sobre las respuestas inmunitarias es un fenómeno mal entendido pero bien reconocido. En una publicación que revisa 146 ensayos clínicos realizados con ActHib™
 25 (PRP-T) [107] la proporción de sujetos del Reino Unido que lograron

concentraciones de anticuerpos contra PRP $\geq 0,15$ $\mu\text{g/ml}$ tras la vacunación primaria fue de 69% (PRP-T sola) y 73% (DTPw-PRP-T) comparado con tasas de más del 90% en los otros estudios que se presentaron. En un estudio de DTPa2-Hib (ActHib™) 82% de los sujetos
5 del reino unido alcanzaron el límite de 0,15 $\mu\text{g/ml}$, una cifra que estaba en la parte baja de la horquilla que se reseña para las combinaciones de Hib con base de DTPa3- y DTPa5 en otros estudios. Una causa posible para la deficiente o menor respuesta inmunitaria a la vacunación puede ser una sensibilidad natural menor debido a una colonización
10 nasofaríngea menor como resultado de los efectos colectivos del programa de inmunización [42,95,108,109].

Anteriormente se ha reseñado que el 30% de los niños del Reino Unido que sufren un fallo de la vacuna con conjugados de Hib mostraron deficiencias menores de inmunoglobulinas o sus subclases que pueden
15 estar asociadas a un retraso en la maduración de la capacidad de respuesta de los linfocitos B a los polisacáridos [95].

La alimentación con leche materna tiene un efecto positivo sobre la respuesta inmunitaria a vacunas con conjugados de Hib [110]. No se conocen los posibles efectos sobre la población de la inmunidad que se
20 produce por las prácticas de alimentación con leche materna en el Reino Unido.

Los estudios de la cinética de anticuerpos tras la enfermedad y la vacunación con vacunas con conjugados de Hib sugiere que las respuestas de anticuerpos de IgG en suero no pueden detectarse antes
25 de 3-4 días tras la exposición a antígenos, incluso en individuos que

están sensibilizados [111,112,113]. Esto puede ser particularmente importante si el anticuerpo presenta una función deficiente debido a la maduración deficiente de la afeidez. Por lo tanto, no es sorprendente que para algunos individuos su memoria inmunológica no les proteja [114].

- 5 Varios estudios tras la vacunación de bebés prematuros con vacunas con conjugados observaron menores respuestas primarias de anticuerpos [96] y una persistencia menor [115]. Tras la dosis de refuerzo de la vacuna con conjugados a los 12 meses, sin embargo, los bebés prematuros y a término lograron los mismos niveles de
- 10 anticuerpos.

Efectos de la cepa de Hib

- La invasividad de una cepa de Hib individual está relacionada con la producción de CP y se ha asociado a la producción de múltiples copias de las secuencias génicas capb; los genes que están implicados
- 15 en la expresión de la cápsula de Hib [116]. En un estudio de Cerquetti y cols [117], se aisló una proporción significativamente mayor de cepas con copias múltiples de secuencias génicas capb (> 2 repeticiones) de pacientes del Reino Unido con fallo de vacuna verdadero comparados con niños sin vacunar, lo que sugiere que el nivel de la expresión del
- 20 polisacárido capsular desempeña un papel en la virulencia de las cepas.

- A partir de 2002 se observó un aumento de dos a tres veces en los fallos de la vacuna de Hib en los Países Bajos que, al contrario que en el Reino Unido, afectaba a todas las edades [108]. Los niños de los Países Bajos recibieron una vacunación primaria con DTPw-IPV + Hib
- 25 (por separado) a los 2, 3 y 4 meses de edad con un refuerzo a los 11

meses. Hasta la fecha no se ha encontrado una explicación adecuada para el aumento, sin embargo se ha sugerido que la mayor diversidad genética de Hib puede haber contribuido. La investigación del genotipo de las cepas de Hib clínicas ha proporcionado indicios de que los adultos
5 que portan diversas cepas de Hib son la fuente de la infección por Hib en los niños [118]. En el Reino Unido no se ha registrado dicho cambio en la diversidad genética [119].

Estos datos sugieren que en los Países Bajos, los patrones de transmisión cambiaron durante el periodo de vacunación hacia la
10 transmisión de adulto a niño en vez de la transmisión de niño a niño del periodo anterior a la vacunación.

Dictamen del experto

Las vacunas con conjugados de Hib han influido profundamente en la epidemiología de la enfermedad por Hib en países en los que su
15 uso se ha extendido. La eficacia de todas las vacunas existentes actualmente con conjugados de Hib se ha demostrado ampliamente y las diferencias entre las vacunas en términos de la magnitud de la respuesta de anticuerpos contra PRP y la avidéz de los anticuerpos no han influido en su eficacia, excepto en ciertos grupos tales poblaciones indígenas
20 que padecen la enfermedad a edades temprana y que dependen de la obtención de altas concentraciones de anticuerpos tras una única dosis. Las vacunas combinadas de Hib con base de DTPa (PRP-T) se usan extensamente e inducen concentraciones de anticuerpos comparables a las producidas por PRP-OMP solo con eficacia demostrada. Las vacunas
25 combinadas de Hib con base de DTPa inducen una respuesta contra

PRP con características funcionales similares a las de las vacunas de Hib administradas por separado. Tras una revisión exhaustiva de la bibliografía [63] el National Advisory Committee de Canadá recientemente concluyó que “La respuesta contra PRP parece estar
5 asociada más a la edad y al calendario de administración de las vacunas que con el tipo de vacuna.” [120, p11].

La administración conjunta de vacunas con conjugados puede provocar una potenciación o interferencia debido a las bien documentadas interacciones específicas con el transportador, o a la
10 menos documentada potenciación o interferencia inespecífica, cuyo mecanismo todavía no se entiende bien.

La interferencia inespecífica entre los conjugados que contienen DTPa-Hib y CRM-197 parece estar relacionada con la dosis, así como influenciada por el régimen de vacunación. La regulación de los linfocitos
15 T de las respuestas contra CRM197 / toxoide de la difteria son la causa probable; aunque todavía debe aclararse el mecanismo exacto. Cuando se administran las combinaciones de (HBV)-IPV-Hib con base de DTPa3 y DTPa5 concomitantemente de forma simultanea (es decir no de forma alterna) con conjugados de CRM197 no se han observado interferencias
20 (Tabla 5). La administración conjunta a la vez de conjugados de MenC-CRM197 y PCV-CRM197 junto con combinaciones de DTPa-(HBV)-IPV-Hib todavía debe dilucidarse. En un estudio reciente de una vacuna combinada novedosa de MenC 9vPCV25 (todos conjugados con CRM197) administrada conjuntamente con DTPw y PRP-T en el Reino
25 Unido, se redujeron las respuestas a Hib, difteria y MenC [106], a pesar

de los conocidos efectos adyuvantes de DTPw. La impredecible naturaleza de la interferencia inmunitaria entre las vacunas con conjugados administradas conjuntamente subraya la importancia de una evaluación adecuada de la administración conjunta de vacuna con
5 conjugados antes de su aplicación a programas de sanidad pública.

Aunque tanto la falta de una dosis de refuerzo como la aplicación de DTPa3-Hib durante un periodo de control subóptimo de la enfermedad por Hib estaban indiscutiblemente ligados al aumento de los fallos de la vacuna de Hib con conjugados en el Reino Unido, existen
10 indicios de peso que sugieren que la interferencia inmunitaria que se produjo cuando se administró DTPa3-Hib conjuntamente con MenCCRM197 se añadió al ya creciente número de fallos de la vacuna de Hib con conjugados que se observó.

De forma interesante, la interferencia inmunitaria entre las
15 vacunas que contienen CRM197 y conjugados de Hib parece modularse cuando está presente IPV en las combinaciones de DTPa3-Hib que se administran. Esta característica de combinaciones más grandes requiere investigación adicional y puede tener consecuencias muy prácticas para las autoridades que deseen administrar concomitantemente diversos
20 antígenos conjugados en una única visita de vacunación. Además de Hib-TT, las respuestas de anticuerpos contra la hepatitis B también parecen potenciarse cuando está presente IPV en la combinación de DTPa- HBV-Hib. Sin embargo, el efecto adyuvante de IPV parecía insuficiente para prevenir la interferencia en la hepatitis B cuando

DTPa2-HBV-IPV-Hib se administraba conjuntamente con 7vPCV-CRM197.

Todavía quedan muchas cuestiones sin responder en la comprensión de las respuestas celulares y humores de anticuerpos en seres humanos vacunados con polisacárido –proteína y la complejidad de las respuestas inmunológicas a las vacunas combinadas. Por lo tanto sigue siendo crítico realizar pruebas continuadas después de la autorización y supervisión de las vacunas con conjugados de Hib para la detección temprana de circunstancias cambiantes que puedan influenciar la eficacia de las vacunas administradas.

Revisión a los cinco años

En los próximos cinco años es improbable que se produzcan cambios importantes en las vacunas disponibles actualmente y muy eficaces de conjugado de Hib-TT y de hepatitis B – aunque puede esperarse el uso creciente de vacunas con conjugados de Hib que contienen menos antígeno y en combinaciones novedosas. Se producirá, con suerte y probablemente, la introducción adicional de combinaciones de DTPw-HBV-Hib en los países en desarrollo. Las decisiones de administrar concomitantemente vacunas con conjugados deberá apoyarse en indicios de ensayos clínicos realizados de forma adecuada para evitar consecuencias negativas de amplio espectro para la sanidad pública. El área de las administraciones concomitantes pediátricas y las potenciales interferencias se describirán mejor. Se producirá una posible autorización de conjugados Hib- MenCY-TT, ACWY-DT, ACWY-CRM197, ACWY-TT, 10vPCV-proteína D y 13vPCV-CRM197

pediátricos. Puede recomendarse la administración conjunta de combinaciones específicas de DTPa con vacunas con conjugados específicas para evitar la interferencia o para potenciar las respuestas inmunitarias contra componentes de la vacuna en las combinaciones de

5 DTPa(HBV)IPV-Hib.

Infanrix™ es una marca del grupo de compañías de GlaxoSmithKline. ActHib™, Pediacel™ y Pentacel™ son marcas de Sanofi Aventis. Prevenar™ y Meningitec™ son marcas de Wyeth Lederle Vaccines. Menjugate® es una marca de Chiron.

Referencias

1. Organización mundial de la salud (OMS). WHO position paper on *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines. WER. 81, 445-52 (2006).
- 5 * revisión general de la epidemiología y uso de vacunas de Hib
2. Peltola H. Worldwide *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21st century: global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates. Clin Microbiol Rev. 13, 302-17 (2000).
- 10 3. Organización mundial de la salud Global Programme for Vaccines and Immunization (GPV): The WHO position paper on *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines. WER. 73, 64-8 (1998).
4. Weller PF, Smith AL, Smith DH, Anderson P. Role of immunity
15 in the clearance of bacteremia due to *Haemophilus influenzae*. J Infect Dis. 138(4), 427-36 (1978).
5. Santosham M, Reid R, Ambrosino DM y cols. Prevention of *Haemophilus influenzae* type b infections in high-risk infants treated with bacterial polysaccharide immune globulin. N Engl J Med. 317, 923-9
20 (1987)
6. Humphrey JH. Splenic macrophages: antigen presenting cells for T1-2 antigens. Immunol Lett. 11(3-4), 149-52 (1985).
7. and presentation in vivo: the microenvironment as a crucial factor. Immunol Today. 11(12), 436-9 (1990).

8. Hsu SM. Phenotypic expression of B lymphocytes. III. Marginal zone B cells in the spleen are characterized by the expression of Tac and alkaline phosphatase. J Immunol. 135(1), 123-30 (1985).

9. BJ. Pneumococcal polysaccharides complexed with C3d bind to
5 human B lymphocytes via complement receptor type 2. Infect Immun.
59(5), 1839-45 (1991).

10. Hostetter MK. Serotypic variations among virulent pneumococci in deposition and degradation of covalently bound C3b: implications for phagocytosis and antibody production. J Infect Dis.
10 153(4), 682-93 (1986).

11. Peltola H, Kayhty H, Sivonen A, Makela H. *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide vaccine in children: a double-blind field study of 100,000 vaccinees 3 months to 5 years of age in Finland. Pediatrics. 60(5), 730-7 (1977).

15 * ensayo sobre la eficacia fundamental de la vacuna de CP de Hib

12. Kayhty H, Karanko V, Peltola H, Makela PH. Serum antibodies after vaccination with *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide and responses to reimmunization: no

13. Eskola J, Ward J, Dagan R, Goldblatt D, Zepp F, Siegrist CA.
20 Combined vaccination of *Haemophilus influenzae* type b conjugate and diphtheria-tetanus10 pertussis containing acellular pertussis. Lancet. 354 (9195), 2063-8 (1999).

** revisión fundamental del significado de las respuestas de anticuerpos más bajas contra PRP tras la vacunación con vacunas
25 combinadas con base de DTPa/Hib

14. Schneerson R, Robbins JB, Szu SC, Yang Y. Vaccines composed of polysaccharide-protein conjugates: current status, unanswered questions, and prospects for the future. En: Towards better carbohydrate vaccines. Bell R, Torrigiani G (eds). John Wiley & Sons, Nueva York. 307-31 (1987).
15. Anderson PW, Pichichero ME, Stein EC y cols. Effect of oligosaccharide chain length, exposed terminal group, and hapten loading on the antibody response of human adults and infants to vaccines consisting of *Haemophilus influenzae* type b capsular antigen unterminally coupled to the diphtheria protein CRM197. J Immunol. 142(7), 2464-8 (1989).
16. Berkowitz CD, Ward JI, Meier K y cols. Safety and immunogenicity of *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide and polysaccharide diphtheria toxoid conjugate vaccines in children 15 to 24 months of age. J Pediatr. 110(4), 509-14 (1987).
17. Shackelford µG, Granoff DM, Nelson SJ, Scott MG, Smith DS, Nahm MH. Subclass distribution of human antibodies to *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide. J Immunol. 138(2), 587-92 (1987).
18. Granoff DM, Sheetz KE, Nahm MH, Madassery JV, Shackelford µG. Further immunologic evaluation of children who develop haemophilus disease despite previous vaccination with type b polysaccharide vaccine. Monogr Allergy. 23, 6-68 (1988).
19. Weinberg GA, Einhorn MS, Lenoir AA, Granoff PD, Granoff 5 DM. Immunologic priming to capsular polysaccharide in infants

immunized with *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide-*Neisseria meningitidis* outer membrane protein conjugate vaccine. J Pediatr. 111(1), 22-7 (1987).

20. Kayhty H. Difficulties in establishing a serological correlate of protection after immunization with *Haemophilus influenzae* conjugate vaccines. Biologicals. 22(4), 397-402 (1994).

**Revisión clave que relaciona los datos clínicos y de anticuerpos en suero

21. Makela O, Mattila P, Rautonen N, Seppala I, Eskola J, Kayhty H. Isotype concentrations of human antibodies to *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide (Hib) in young adults immunized with the polysaccharide as such or conjugated to a protein (diphtheria toxoid). J Immunol. 139(6), 1999-2004 (1987).

22. Morell A, Skvaril F, Hitzig WH, Barandun S. IgG subclasses: development of the serum concentrations in "normal" infants and children. J Pediatr. 80(6), 960-4 (1972).

23. Barington T, Juul L, Gyhrs A, Heilmann C. Heavy-chain isotype patterns of human antibody-secreting cells induced by *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines in relation to age and preimmunity. Infect Immun. 62(8), 66-74 (1994).

24. Ambrosino DM, Sood SK, Lee MC y cols. IgG1, IgG2 and IgM responses to two *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines in young infants. Pediatr Infect Dis J. 11, 855-9 (1992).

25. Granoff DM, Shackelford µG, Holmes SJ, Lucas AH. Variable region expression in the antibody responses of infants vaccinated with

Haemophilus influenzae type b polysaccharide-protein conjugates. Description of a new lambda light chain VB62440 68 associated idiotype and the relation between idiotype expression, avidity, and vaccine formulation. The Collaborative Vaccine Study Group. J Clin Invest. 91(3),
5 788-96 (1993).

26. Bulkow LR, Wainwright RB, Letson GW, Chang SJ, Ward JI. Comparative immunogenicity of four *Haemophilus influenzae* type b conjugate 5 vaccines in Alaska Native infants. Pediatr Infect Dis J. junio de 1993; 12(6): 484-92.

10 27. Eskola J, Kayhty H, Peltola H y cols. Antibody levels achieved in infants by course of *Haemophilus influenzae* type B polysaccharide/diphtheria toxoid conjugate vaccine. Lancet. 1(8439), 1184-6 (1985).

28. Decker MD, Edwards KM, Bradley R, Palmer P. Comparative
15 trial in infants of four conjugate *Haemophilus influenzae* type b vaccines. J Pediatr. 120(2 Pt 1), 184-9 (1992).

29. Carlsson RM, Claesson BA, Lagergard T, Kayhty H. Serum antibodies against *Haemophilus influenzae* type b and tetanus at 2.5 years of age: a follow-up of 2 different regimens of infant vaccination.
20 Scand J Infect Dis. 28(5), 519-23 (1999).

30. Jelonek MT, Chang SJ, Chiu CY, Park MK, Nahm MH, Ward JI. Comparison of naturally acquired and vaccine-induced antibodies to *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide. Infect Immun. 61(12), 5345-50 (1993).

31. Decker MD, Edwards KM, Bradley R, Palmer P. Responses of children to booster immunization with their primary conjugate *Haemophilus influenzae* type B vaccine or with polyribosylribitol phosphate conjugated with diphtheria toxoid. J Pediatr. 122(3), 410-3
5 (1993).

32. Schlesinger Y, Granoff DM. Avidity and bactericidal activity of antibody elicited by different *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines. The Vaccine Study Group. JAMA. 267(11), 1489-94 (1992).

33. Lucas AH, Granoff DM. Functional differences in idiotypically
10 defined IgG1 anti-polysaccharide antibodies elicited by vaccination with *Haemophilus influenzae* type B polysaccharide-protein conjugates. J Immunol. 154(8), 4195-2 (1995).

34. Ward J, Brenneman G, Letson GW, Heyward WL. Limited efficacy of a *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine in Alaska
15 Native infants. The Alaska H. influenzae Vaccine Study Group. N Engl J Med. 323(20), 1393-401 (1990).

35. Eskola J, Kayhty H, Takala AK, y cols. A randomized, prospective 5 field trial of a conjugate vaccine in the protection of infants and young children against invasive *Haemophilus influenzae* type b
20 disease. N Engl J Med. 323(20), 1381-7 (1990).

36. Peltola H, Eskola J, Kayhty H, Takala AK, Makela PH. Clinical comparison of the *Haemophilus influenzae* type B polysaccharide-diphtheria toxoid and the oligosaccharide-CRM197 protein vaccines in infancy. Arch Pediatr Adolesc Med. 148(6), 620-5 (1994).

37. Black SB, Shinefield HR, Fireman B, Hiatt R, Polen M, Vittinghoff E. Efficacy in infancy of oligosaccharide conjugate *Haemophilus influenzae* type b (HbOC) vaccine in a United States population of 61,080 children. The Northern California Kaiser Permanente Vaccine Study Center Pediatrics Group. *Pediatr Infect Dis J*. (2), 97-104 (1991).
38. Santosham M, Rivin B, Wolff M, y cols. Prevention of *Haemophilus influenzae* type b infections in Apache and Navajo children. *J Infect Dis*. 165 Supl 1, S144- 1 (1992).
39. Adams WG, Deaver KA, Cochi SL y cols. Decline of childhood *Haemophilus influenzae* type b (Hib) disease in the Hib vaccine era. *JAMA*. 269(2), 221-6 (1993).
40. Barbour ML.. Conjugate vaccines and the carriage of *Haemophilus influenzae* type b. *Emerg Infect Dis*. 2(3), 176-82 (1996).
41. Takala AK, Eskola J, Leinonen M y cols. Reduction of oropharyngeal carriage of *Haemophilus influenzae* type b (Hib) in children immunized with an Hib conjugate vaccine. *J Infect Dis*. 164(5), 982-6 (1991).
42. Murphy TV, Pastor P, Medley F, Osterholm MT, Granoff DM. Decreased *Haemophilus* colonization in children vaccinated with *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine. *J Pediatr*. 122(4), 517-23 (1993).
43. Adegbola RA, Mulholland EK, Secka O, Jaffar S, Greenwood BM. Vaccination with a *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine

reduces oropharyngeal carriage of *H. influenzae* type b among Gambian children. *J Infect Dis.* 177(6), 1758-61 (1998).

44. Kauppi M, Eskola J, Kayhty H. Anti-capsular polysaccharide antibody concentrations in saliva after immunization with *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines. *Pediatr Infect Dis J.* 14(4), 286-94 (1995).

45. Barbour ML, Booy R, Crook DW y cols. *Haemophilus influenzae* type b carriage and immunity four years after receiving the *Haemophilus influenzae* oligosaccharide-CRM197 (HbOC) conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J.* 12(6), 478-84 (1993).

46. Mohle-Boetani JC, Ajello G, Breneman E y cols. Carriage of *Haemophilus influenzae* type b in children after widespread vaccination with conjugate *Haemophilus influenzae* type b vaccines. *Pediatr Infect Dis J.* 12(7), 589-93 (1993).

47. Kähty H, Peltola H, Karanko V, Mäkelä PH. The protective level of serum antibodies to the capsular polysaccharide of *Haemophilus influenzae* type b. *J Infect Dis.* 147, 1100 (1983).

48. Anderson P. The protective level of serum antibodies to the capsular polysaccharide of *Haemophilus influenzae* type b. *J Infect Dis.* 149(6), 1034-5 (1984).

49. Granoff DM. Assessing efficacy of *Haemophilus influenzae* type b combination vaccines. *Clin Infect Dis.* 33 Supl 4, S278-87 (2001).

50. Singleton R, Hammitt L, Hennessy T y cols. The Alaska *Haemophilus influenzae* type b experience: lessons in controlling a vaccine-preventable disease. *Pediatrics.* 118(2), e421-9 (2006).

51. Pichichero ME, Voloshen T, Zajac D, Passador S. Avidity maturation of antibody to *Haemophilus influenzae* type b (Hib) after immunization with diphtheriatetanus- acellular pertussis-hib-hepatitis B combined vaccine in infants. J Infect Dis. 180(4), 1390-3 (1999).

- 5 52. Poolman J, Kaufhold A, De Grave D, Goldblatt D. Clinical relevance of lower Hib response in DTPa-based combination vaccines. Vaccine. 19(17-19), 2280-5 (2001).

** trabajo clave que muestra la avidez de los anticuerpos y la actividad bactericida no difieren entre la administración separada o
10 mezclada de vacunas con base de DTPa-Hib que contienen IPV.

53. Denoel PA, Goldblatt D, Vleeschauwer I, Jacquet J-M, Pichichero ME, Poolman JT. Quality of the *Haemophilus influenzae* type b antibody response induced by DTPa/Hib combination vaccines. Clin Vacc Immunol.

- 15 ** ilustra las diferencias entre las vacunas que contienen IPV y las que no en términos de parámetros in vitro

54. Bredius RG, Driedijk PC, Schouten MF, Weening RS, Out TA. Complement activation by polyclonal immunoglobulin G1 and G2 antibodies against *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* type
20 b, and tetanus toxoid. Infect Immun. 60(11), 4838-47 (1992).

55. Amir J, Scott MG, Nahm MH, Granoff DM. Bactericidal and opsonic activity of IgG1 and IgG2 anticapsular antibodies to *Haemophilus influenzae* type b. J Infect Dis. 162(1), 163-71 (1990).

56. Goldblatt D, Miller E, McCloskey N, Cartwright K., Immunological response to conjugate vaccines in infants: follow up study. BMJ. 316, 1570-1 (1998).

57. Richmond P, Borrow R, Goldblatt D y cols. Ability of 3 different
5 meningococcal C conjugate vaccines to induce immunologic memory after a single dose in UK toddlers. J Infect Dis. 183(1), 160-3 (2001).

58. Pallares DE, Figueroa JE, Densen P, Giclas PC, Marshall GS. Invasive *Haemophilus influenzae* type b infection in a child with familial deficiency of the beta subunit of the eighth component of complement. J
10 Pediatr. 128(1), 102-3 (1996).

59. Musher D, Goree A, Murphy T y cols. Immunity to *Haemophilus influenzae* type b in young adults: correlation of bactericidal and opsonizing activity of serum with antibody to polyribosylribitol phosphate and lipooligosaccharide before and after vaccination. J Infect
15 Dis. 154(6), 935-43 (1986).

60. Schmitt HJ, Zepp F, Muschenborn S y cols. Immunogenicity and reactogenicity of a *Haemophilus influenzae* type b tetanus conjugate vaccine when administered separately or mixed with concomitant diphtheria-tetanus-toxoid 5 and acellular pertussis vaccine for primary
20 and for booster immunizations. Eur J Pediatr.

7(3), 208-14 (1998).

61. Halperin SA, King J, Law B, Mills E, Willems P. Safety and immunogenicity of *Haemophilus influenzae*-tetanus toxoid conjugate vaccine given separately or in combination with a three-component
25 acellular pertussis vaccine combined with diphtheria and tetanus toxoids

and inactivated poliovirus vaccine for the first four doses. Clin Infect Dis. 28(5), 995-1001 (1999).

62. Schmitt HJ, von Kries R, Hassenpflug B y cols. *Haemophilus influenzae* type b disease: impact and effectiveness of diphtheria-tetanus toxoids-acellular pertussis (-inactivated poliovirus)/H. influenzae type b combination vaccines. Pediatr Infect Dis J. agosto de 2001; 20(8):767-74.

63. Gilca V, Duval B. Literature review on DTaP based penta- and hexavalent vaccines approved for clinical use in Canada. Institut national de santé publique du Quebec, Canada (2006).

64. Schmitt HJ, Faber J, Lorenz I, Schmole-Thoma B, Ahlers N. The safety, reactogenicity and immunogenicity of a 7-valent pneumococcal conjugate vaccine (7VPnC) concurrently administered with a combination DTaP-IPV-Hib vaccine.

Vaccine. 21(25-26), 3653-62 (2003).

65. Goldblatt D, Southern J, Ashton L y cols. Immunogenicity and boosting after a reduced number of doses of a pneumococcal conjugate vaccine in infants and toddlers. Pediatr Infect Dis J. 25(4), 312-9 (2006).

* ensayo clínico que muestra indicios de la interferencia inespecífica de CRM197

66. Schmitt HJ, Knuf M, Ortiz E, Sanger R, Uwamwezi MC, Kaufhold A. Primary vaccination of infants with diphtheria-tetanus-acellular pertussis-hepatitis B virusVB62440 73 inactivated polio virus and *Haemophilus influenzae* type b vaccines given as either separate or mixed injections. J Pediatr. 137(3), 304-12 (2000).

67. Schmitt HJ, Maechler G, Habermehl P, y cols. Immunogenicity, reactogenicity and immune memory after primary vaccination with a novel *Haemophilus influenzae*- *Neisseria meningitidis* serogroup C conjugate vaccine. Clin Vaccine Immunol.

5 7 de febrero de (2007).

68. Habermehl P, Leroux-Roels G, Säger R, Mähler G, Boutriau D. Immunogenicity and Reactogenicity of a combined *Haemophilus influenzae* Type b and *Neisseria meningitidis* serogroup C and Y-tetanus toxoid conjugate (Hib- MenCY-TT) vaccine administered as a primary at
10 2, 3 and 4 months and as a booster at second year of life. Resumen. 15th International Pathogenic *Neisseria* Conference, Cairns, Australia, 10-15 de septiembre (2006).

69. Halperin BA, Halperin SA, McGrath P, Smith B, Houston T. Use of lidocaineprillocaine patch to decrease intramuscular injection pain
15 does not adversely affect the antibody response to diphtheria-tetanus-acellular pertussis-inactivated poliovirus-*Haemophilus influenzae* type b conjugate and hepatitis B vaccines in infants from birth to six months of age. Pediatr Infect Dis J. 21(5), 399-405 (2002).

70. Mills E, Gold R, Thipphawong J, y cols. Safety and
20 immunogenicity of a combined five-component pertussis-diphtheria-tetanus-inactivated poliomyelitis- *Haemophilus b* conjugate vaccine administered to infants at two, four, and six months of age. Vaccine. 16(6), 576-85 (1998).

71. Lin TY, Wang YH, Chang LY y cols. A fully liquid diphtheria-
25 tetanus-five component acellular pertussis-inactivated poliomyelitis-

Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine: immunogenicity and safety of primary vaccination in Taiwanese infants. Int J Infect Dis. 9 de junio (2006).

72. Lee CY, Thipphawong J, Huang LM, y cols. An evaluation of
5 the safety and immunogenicity of a five-component acellular pertussis, diphtheria, and tetanus toxoid vaccine (DTaP) when combined with a *Haemophilus influenzae* type bVB62440 74 tetanus toxoid conjugate vaccine (PRP-T) in Taiwanese infants. Pediatrics 3(1), 25-30 (1999).

73. Pentacel® DTaP-IPV/Hib Combined Diphtheria and Tetanus
10 Toxoids and Acellular Pertussis Adsorbed, Inactivated Poliovirus and *Haemophilus b* Conjugate (Tetanus Toxoid Conjugate) Vaccine Combined. VRBPAC Briefing Document. Versión 2: 2006.

74. Kayhty H, Eskola J, Peltola H, Saarinen L, Makela PH. High
15 antibody responses to booster doses of either *Haemophilus influenzae* capsular polysaccharide or conjugate vaccine after primary immunization with conjugate vaccines. J Infect Dis. 165 Supl 1, S165-6 (1992).

75. Kalies H, Verstraeten T, Grote V y cols. Four and one-half-year
follow-up of the effectiveness of diphtheria-tetanus toxoids-acellular
20 pertussis/*Haemophilus influenzae* type b and diphtheria-tetanus toxoids-acellular pertussis-inactivated poliovirus/H. influenzae type b combination vaccines in Germany. Pediatr Infect Dis J. 23(10), 944-50 (2004).

* trabajo que ilustra la eficacia continuada de vacunas combinadas con base de DTPa/Hib en la prevención de la enfermedad Hib en Alemania (calendario de 2-3-4 meses)

76. Johnson NG, Ruggeberg JU, Balfour GF y cols. *Haemophilus influenzae* type b reemergence after combination immunization. *Emerg Infect Dis.* 12(6), 937-41 (2006).

77. Carlsson RM, Claesson BA, Kayhty H, Selstam U, Iwarson S.
5 Studies on a Hibtetanus toxoid conjugate vaccine: effects of co-administered tetanus toxoid vaccine, of administration route and of combined administration with an inactivated polio vaccine. *Vaccine.* 18(5-6), 468-78 (1999).

78. Rennels MB, Englund JA, Bernstein DI y cols. Diminution of
10 the antipolyribosylribitol phosphate response to a combined diphtheria-tetanus-acellular pertussis/*Haemophilus influenzae* type b vaccine by concurrent inactivated poliovirus vaccination. *Pediatr Infect Dis J.* 19(5), 417-23 (2000).

79. Rowe J, Yerkovich ST, Richmond P y cols. Th2-associated
15 local reactions to the acellular diphtheria-tetanus-pertussis vaccine in 4- to 6-year-old children. *Infect Immun.* 73(12), 8130-5 (2005).

80. Yeh SH, Ward JI, Partridge S, y cols. Safety and immunogenicity of a pentavalent diphtheria, tetanus, pertussis, hepatitis B and polio combination vaccine in infants. *Pediatr Infect Dis J.* 20(10),
20 973-80 (2001).

81. Blatter MM, Reisinger KS, Terwelp DR, DelBuono FJ, Howe BJ. Immunogenicity of a combined diphtheria-tetanus-acellular pertussis (DTtricomponent Pa) – hepatitis B (HB)-inactivated poliovirus (IPV) admixed with *Haemophilus influenzae* type b (Hib) vaccine in infants.

Resumen 813. American Pediatric Society and the Society for Pediatric Research. Nueva Orleans, Estados Unidos. 1-5 de mayo (1998).

82. Kelly DF, Moxon ER, Pollard AJ. *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines. Immunology. 113(2), 163-74 (2004).

5 83. Anderson P, Ingram DL, Pichichero ME, Peter G. A high degree of natural immunologic priming to the capsular polysaccharide may not prevent *Haemophilus influenzae* type b meningitis. Pediatr Infect Dis J. 19(7), 589-91 (2000).

84. McVernon J, Andrews N, Slack MP, Ramsay ME. Risk of
10 vaccine failure after *Haemophilus influenzae* type b (Hib) combination vaccines with acellular pertussis. Lancet. 361(9368), 1521-3 (2003).

85. Trotter CL, Andrews NJ, Kaczmarek EB, Miller E, Ramsay ME. Effectiveness of meningococcal serogroup C conjugate vaccine 4 years after introduction. Lancet. 364(9431), 365-7 (2004).

15 * ilustra el declive en la inmunidad tras la vacunación primaria con vacunas de conjugado de MenC sin refuerzo

86. Ramsay ME, McVernon J, Andrews NJ, Heath PT, Slack MP. Estimating *Haemophilus influenzae* type b vaccine effectiveness in England and Wales by use of the screening method. J Infect Dis. 188(4),
20 481-5 (2003).

* trabajo clave que resume los fallos de las vacunas de Hib en el Reino Unido desde la introducción de vacunas con conjugados.

87. Heath PT, Booy R, Azzopardi HJ y cols. Antibody concentration and clinical protection after Hib conjugate vaccination in the
25 United Kingdom. JAMA.

284(18), 2334-5 40 (2000).

88. Heath PT, McVernon J. The UK Hib vaccine experience. Arch Dis Child. 86(6), 396-9 (2002).

89. Slack MH, Cade S, Schapira D y cols. DT5aP-Hib-IPV and
5 MCC vaccines: preterm infants' response to accelerated immunization. Arch Dis Child. 90(4), 338-41 (2005).

* ensayo clínico que muestra indicios de la interferencia inespecífica de CRM197

90. Cameron C, Pecuerpo R. Introduction of pneumococcal
10 conjugate vaccine to the UK childhood immunization programme, and changes to the meningitis C and Hib schedules. Euro. Surveill. 11(3), E060302,4 (2006).

91. Booy R, Heath PT, Slack MP, Begg N, Moxon ER. Vaccine failures after primary immunization with *Haemophilus influenzae* type-b
15 conjugate vaccine without booster. Lancet. 349(9060), 1197-202 (1997).

92. Steinhoff M, Goldblatt D. Conjugate Hib vaccines. Lancet. 361(9355), 360-1 (2003).

93. Makela PH, Kayhty H. Evolution of conjugate vaccines. Expert Rev Vaccines. 1(3), 399-410 (2002).

20 94. von Kries R, Bohm O, Windfuhr A. *Haemophilus influenzae* b-vaccination: the urgency for timely vaccination. Eur J Pediatr. 156(4), 282-7 (1997).

* ilustra la importancia de la vacunación de refuerzo en la prevención de los fallos de las vacunas de Hib

95. Heath PT, Booy R, Griffiths H y cols. Clinical and immunological risk factors associated with *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine failure in childhood. Clin Infect Dis. 31(4), 973-80 (2000).
- 5 96. Slack MH, Schapira D, Thwaites RJ y cols. Immune response of premature infants to meningococcal serogroup C and combined diphtheria-tetanus toxoids-acellular pertussis-*Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines. J Infect Dis. 184(12), 1617-20 (2001).
- 10 * ensayo clínico que muestra indicios de la interferencia inespecífica de CRM197
- 15 97. Kitchin N, Southern J, Morris R y cols. Evaluation of a diphtheria-tetanus-acellular pertussis- inactivated poliovirus-Hib vaccine given concurrently with meningococcal group C conjugate vaccine at 2, 3 and 4 months of age. Arch Dis Child. 2 de mayo 2 (2006)
- 20 98. Tejedor JC, Omenaca F, Garcia-Sicilia J y cols. Immunogenicity and reactogenicity of a three-dose primary vaccination course with a combined diphtheria-tetanusacellular pertussis-hepatitis B- inactivated polio-*Haemophilus influenzae* type b vaccine coadministered with a meningococcal C conjugate vaccine. Pediatr Infect Dis J. 23(12), 1109-15 (2004).
99. Knuf M, Habermehl P, Cimino C, Petersen G, Schmitt HJ. Immunogenicity, reactogenicity and safety of a 7-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) concurrently administered with a DTPa-HBV-

IPV/Hib combination vaccine in healthy infants. *Vaccine*. 24(22), 4727-36 (2006)

100. Tichmann-Schumann I, Soemantri P, Behre U, Disselhoff J, Mahler H, Maechler G, Sanger R, Jacquet JM, Schuerman L.
5 Immunogenicity and reactogenicity of four doses of diphtheria-tetanus-three-component acellular pertussis-hepatitis B-inactivated polio virus-*Haemophilus influenzae* type b vaccine coadministered with 7-valent pneumococcal conjugate Vaccine. *Pediatr Infect Dis J*. 24(1), 70-7 (2006).

101. Halperin SA, McDonald J, Samson L y cols. Simultaneous
10 administration of meningococcal C conjugate vaccine and diphtheria-tetanus-acellular pertussis-inactivated poliovirus-*Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine in children: a randomized double-blind study. *Clin Invest Med*. 25(6):243-51 (2002).

102. Scheifele DW, Halperin SA, Smith B, Ochnio J, Meloff K, Duarte-Monteiro D.

Assessment of the compatibility of co-administered 7-valent pneumococcal conjugate, DTaP/IPV/PRP-T Hib and hepatitis B vaccines in infants 2-7 months of age. *Vaccine*. 24(12), 2057-64 (2006).

- 20 * ensayo clínico que muestra indicios de la interferencia inespecífica de CRM197

103. Olivier C, Liese JG, Stojanov S, Tetelboum R, Cottard M, Fritzell B, Laufer D, Petersen G, Corsaro B, Belohradsky. Immunogenicity and safety of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine (7vPNC-
25 Prevenar®) coadministered with a hexavalent DTaP-IPV-HBV-Hib

741

Vaccine (Hexavac ®). Presentación G-836. The 42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Diego, California. 27-30 de septiembre (2002).

104. Dagan R, Eskola J, Leclerc C, Leroy O. Reduced response
5 to multiple vaccines sharing common protein epitopes that are administered simultaneously to infants.

Infect Immun. 66(5), 2093-8 (1998).

105. Dagan R, Goldblatt D, Maleckar JR, Yaich M, Eskola J.
Reduction of antibody response to an 11-valent pneumococcal vaccine
10 coadministered with a vaccine containing acellular pertussis components. Infect Immun. 72(9), 5383-91 (2004).

106. Buttery JP, Riddell A, McVernon J y cols. Immunogenicity and safety of a combination pneumococcal-meningococcal vaccine in infants: a randomized controlled trial. JAMA. 293(14), 1751-8 (2005).

- 15 107. Vidor E, Hoffenbach A, Fletcher MA. *Haemophilus influenzae* type b vaccine: reconstitution of lyophilised PRP-T vaccine with a pertussis-containing paediatric combination vaccine, or a change in the primary series immunization schedule, may modify the serum anti-PRP antibody responses. Curr Med Res Opin. 17(3), 197-209 (2001).

- 20 108. Spanjaard L, van den Hof S, de Melker HE, Vermeer-de Bondt PE, van der Ende A, Rijkers GT. Increase in the number of invasive *Haemophilus influenzae* type b infections. Ned Tijdschr Geneesk. 149(49), 2738-42 (2005).

109. McVernon J, Howard AJ, Slack MP, Ramsay ME. Long-term impact of vaccination on *Haemophilus influenzae* type b (Hib) carriage in the United Kingdom. *Epidemiol Infect.* 132(4), 765-7 (2004).

110. Pabst HF, Spady DW. Effect of breast-feeding on antibody
5 response to conjugate vaccine. *Lancet.* 4 de agosto de 1990; 336(8710):269-70.

111. Borrow R, Southern J, Andrews N y cols. Comparison of antibody kinetics following meningococcal serogroup C conjugate vaccine between healthy adults previously vaccinated with meningococcal A/C
10 polysaccharide 5 vaccine and vaccine-naïve controls. *Vaccine.* 19(23-24), 3043-50 (2001).

112. Madore DV, Johnson-Kraines CL, Rothstein EP, Smith DH. Kinetics of antibody response to *Haemophilus influenzae* type b vaccines. Pennridge Pediatric Associates. *Curr Med Res Opin.* 15(2), 105-12
15 (1999).

113. Pichichero ME, Voloshen T, Passador S. Kinetics of booster responses to *Haemophilus influenzae* type B conjugate after combined diphtheria-tetanusacellular pertussis-*Haemophilus influenzae* type b vaccination in infants. *Pediatr Infect Dis J.* 18(12), 1106-8 (1999).

20 114. Lucas AH, Granoff DM. Imperfect memory and the development of *Haemophilus influenzae* type B disease. *Pediatr Infect Dis J.* 20(3), 235-9 (2001).

115. Heath PT, Booy R, McVernon J y cols. Hib vaccination in infants born prematurely. *Arch Dis Child.* 88(3), 206-10 (2003).

116. Corn μ G, Anders J, Takala AK, Kayhty H, Hoiseth SK. Genes involved in *Haemophilus influenzae* type b capsule expression are frequently amplified. J Infect Dis. 167(2), 356-64 (1993).

117. Cerquetti M, Cardines R, Ciofi Degli Atti ML y cols. Presence
5 of multiple copies of the capsulation b locus in invasive *Haemophilus influenzae* type b (Hib) strains isolated from children with Hib conjugate vaccine failure. J Infect Dis. 192(5), 819-23 (2005).

118. Schouls LM, van der Ende A, van de Pol I, Schot C, Spanjaard L, Vauterin P, Wilderbeek D, Witteveen S. Increase in genetic
10 diversity of *Haemophilus influenzae* serotype b (Hib) strains after introduction of Hib vaccination in The Netherlands. J Clin Microbiol. 43(6), 2741-9 (2005).

119. Aracil B, Slack M, Perez-Vazquez M, Roman F, Ramsay M, Campos J.
15 Molecular epidemiology of *Haemophilus influenzae* type b causing vaccine failures in the United Kingdom. J Clin Microbiol. 44(5), 1645-9 (2006).

120. National Advisory Committee on Immunization (NACI). Statement on the recommended use of pentavalent and hexavalent
20 vaccines. CCDR: 33 (2007).

121. Insel RA. Potential alterations in immunogenicity by combining or simultaneously administering vaccine components. Ann N Y Acad Sci. 754, 35-47 (1995).

122. Avdicova M, Prikazsky V, Hudeckova H, Schuerman L,
25 Willems P.

Immunogenicity and reactogenicity of a novel hexavalent DTPa-HBV-IPV/Hib vaccine compared to separate concomitant injections of DTPa-IPV/Hib and HBV vaccines, when administered according to a 3, 5 and 11 month vaccination schedule. Eur J Pediatr. noviembre de 5 2002;161(11):581-7.

123. Pichichero ME, Bernstein H, Blatter MM, Schuerman L y cols. Immunogenicity and safety of a combination diphtheria, tetanus toxoid, acellular pertussis, hepatitis b, and inactivated poliovirus vaccine coadministered with a 7-valent pneumococcal conjugate vaccine and a 10 *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine. J Pediatr. In Press.

124. Aristegui J, Dal-Re R, Diez-Delgado J y cols. Comparison of the reactogenicity and immunogenicity of a combined diphtheria, tetanus, acellular pertussis, hepatitis B, inactivated polio (DTPa-HBV-IPV) vaccine, mixed with the *Haemophilus influenzae* type b (Hib) 15 conjugate vaccine and administered as a single injection, with the DTPa-IPV/Hib and hepatitis B vaccines administered in two simultaneous injections to infants at 2, 4 and 6 months of age. Vaccine. 8 de septiembre de 2003; 21(25-26):3593-600.

20 Figura 1: Resultados de los ensayos clínicos individuales con vacunas combinadas de Hib-TT con base de DTPa3- y DTPa5. Proporción de sujetos con concentraciones de anticuerpos contra PRP $\geq 0,15$ $\mu\text{g/ml}$ después de vacunación primaria con 3 dosis.

*Sin datos disponibles

Figura 2: Resultados de los ensayos clínicos individuales con vacunas combinadas de Hib-TT con base de DTPa3- y DTPa5. GMC de anticuerpos contra PRP ($\mu\text{g/ml}$) después de una vacunación primaria de 3 dosis.

- 5 Valores de GMC menores y mayores presentados a partir de [69]
Los datos para las Figuras 1 y 2 están adaptados a partir de [60, 63, 64, 65, 66, 68, 69, 70, 72, 73].

Tabla 1: Estudios de eficacia y efectividad de vacunas conjugadas de Hib con respuestas de anticuerpos en suero en bebés tras la inmunización primaria

Vacuna	País	Calendario	N	Contra PRP µg/ml (Vacunación primaria)			Eficacia % (IC del 95%)	
Diseño	(año)	Primaria		% ≥ 0,15	% ≥ 1,0	GMC	Primaria	Refuerzo
(control)		(refuerzo)						
PRP-D								
RC P	EE. UU. (Alaska)	2-4-6	2102	48 (%>0,1)	15	0,18	35 (-57;73)	
(placebo)	1984-88 [34]							
RCP	Finlandia	3-4-6 (14-18)	11400	68	40	0,53	90 (70;96)	94 (83;98)
(sin vacunar)	1985-87 [35]							
RH	Finlandia	4-6 (14-18)	60500	73	32	0,63	87 (69;96)	100 (88;100)
	1988-91 [36]							
Hib-CRM197								
CP	EE. UU.	2-4-6	51480	100	97	18,9	100 (68;100)	
(sin vacunar)	1988-90 [37]							

RH	Finlandia	4-6 (14-18)	56500	100	78	4,32	95 (76;99)	100 (87;100)
	1988-91 [36]							

PRP-OMP								
RCP	EE. UU. (Navajo)	2-4	735	91	59	1,35	95 (72;99)	
(placebo)	1988-90 [38]							

R- aleatorizado, C- controlado, P- prospectivo, H- controles históricos, N: número de participantes, GMC – media geométrica de la concentración de anticuerpos contra PRP

Tabla 2: Efecto de IPV sobre las concentraciones de anticuerpos contra PRP un mes después de la 5 vacunación primaria con Hib-TT (resultados no publicados anteriormente)

Vacuna	N	≥ 0,15 µg/ml	≥ 0,15 µg/ml	GMC	IC del	Vacuna	N	≥ 0,15 µg/ml	≥ 0,15 µg/ml	GMC	IC del
(sin IPV)		%	%		95%	(mezclada con IPV)		%	%		95%
Vacunación primaria a los 3, 4 y 5 meses de edad en Alemania											
DTPa3-	48	93,8	45,8	1,108*	0,726-	DTPa3-	46	100	82,6	2,185*	1,587-
HBV-					1,690	HBV-IPV-					3,007

Hib + OPV						Hib											
DTPa3-	40	97,5	72,5	1,817	1,211-	DTPa3-	38	100	78,9	2,797	1,968-						
Hib-					2,727	IPV-					3,973						
HBV + OPV						Hib+HBV											
Vacunación primaria a los 3 y 5 meses de edad en Suecia [77]																	
DT/Hib + IPV	92	83	48†	0,8**	-	DT/Hib/IPV	91	90	65†	2,0**							

N = número de sujetos analizados, % = número/porcentaje de sujetos con concentraciones superiores al nivel límite, IC del 95% = intervalos de confianza del 95%, límite inferior y superior, diferencia estadísticamente significativa entre los grupos: *IC del 95% para la proporción de tasa de GMC entre grupos no incluye 1 (0,51 5 [0,30; 0,86]), ** P<0,01 prueba t no pareada, † P<0,01 prueba de chi cuadrado

Tabla 3: Efecto de IPV sobre la respuesta inmunitaria a la hepatitis B tras la vacunación primaria a los 2, 4 y 6 meses de edad

Vacuna (IPV por separado)	N	% ≥10 mIU/ ml	GMC	IC del 95%	Vacuna (IPV mezclado)	N	% ≥10 mIU/ ml	GMC	IC del 95%
Estados Unidos [81]									
DTPa3 + HBV + Hib + OPV	98	100	934,3	728,1;1198,8	DTPa3HBVIPVHib	106	99	1239,5	925,0;1661,0
Estados Unidos [80]									
DTPa3 + HBV + Hib + OPV	77	100	804,9*	617,0;1049,9	DTPa3HBVIPV + Hib*	89	100	1661,2 *	1255,8;2197,5
DTPa3HBV + IPV + Hib	79	98,7	918,6*	669,7;1259,9					
Eslovaquia [122]									
HBV + DTPa3IPVHib**	138	82,6	82,4*	60,2;112,7	DTPa3HBVIPVHib**	141	96,4	593,2*	450,9;780,5

Estados Unidos [123]												
DTPa3 + HBV + IPV + PRP- CRM197 + 7vPCVCRM197	154	98,7	667,5*	534,1;834,3	DTPa3HBV/IPV + PRP-	167	98,2	1123,6*	912,0;1384,2			
					CRM197 + 7vPCVCRM197							
España [124]												
DTPaIPVHib + HBV	31	100	1826,8	1246,4;2677,4	DTPaHBV/IPVHib	40	97,5	970	573,4;1640,8			

N = número de sujetos analizados, %= número / porcentaje de sujetos con concentraciones superiores al nivel límite, *p<0,01 IPV por separado comparado con grupo mezclado con IPV usando una prueba t bilateral. Para todas las otras comparaciones de GMC P>0,05. ** después de la dosis 2.

Tabla 4: Índice de avidez medio geométrico (GMAI) de los anticuerpos IgG contra PRP en tres estudios clínicos (adaptado de [53])

Estudio	Grupo	N	GMAI (IC al 95%)	† P =
<i>Estudio 1: vacunación primaria a los 2-4-6 meses con refuerzo a los 15-18 meses</i>				
Después de la primaria	DTPa3 + Hib	33	0,094 (0,092-0,096)	1
	DTPa3 + Hib	45	0,094 (0,094-0,95)	
Antes del refuerzo	DTPa3 + Hib	21	0,292 (0,221-0,387)	0,0189
	DTPa3-Hib	18	0,183 (0,138-0,242)	
Después del refuerzo	DTPa3 + Hib	31	0,252 (0,202-0,313)	0,0000
	DTPa3-Hib	59	0,126 (0,115-0,138)	
<i>Estudio 2: vacunación primaria a los 3-4-5 meses con refuerzo a los 15-27 meses</i>				
Después de la primaria	DTPa3 + HBV + OPV + Hib*	40	0,126 (0,106-0,150)	0,0794
	DTPa3-HBV-IPV-Hib	40	0,105 (0,094-0,118)	
Antes del refuerzo	DTPa3 + Hib*	21	0,192 (0,143-0,257)	0,8164
	DTPa3 + Hib	23	0,183 (0,135-0,250)	
Después del refuerzo	DTPa3 + Hib*	34	0,189 (0,145-0,246)	0,8067

refuerzo				
	DTPa3 + Hib	37	0,182 (0,136-0,193)	
Estudio 3: vacunación primaria a los 6-10-14 semanas con refuerzo a los 15-19 meses				
Después de la primaria	DTPw-HBV-Hib _{2,5}	25	0,085 (0,070-0,103)	0,2398
	DTPw-HBV-Hib	25	0,069 (0,051-0,094)	
Antes del refuerzo	DTPw-HBV-Hib _{2,5}	25	0,207 (0,167-0,258)	0,0744
	DTPw-HBV-Hib	25	0,283 (0,214-0,374)	

Muestras de sangre extraídas un mes después de la serie primaria de 3 dosis y antes y 4-6 semanas después de la dosis de refuerzo. N: número de sujetos analizados; NS: diferencia no estadísticamente significativa; IC del 95%: intervalos de confianza del 95%; GMAI: índice de avidez media geométrica; *OmniHIB™; HBV – vacuna de hepatitis B DTPw-HBV / Hib_{2,5}: vacuna de Hib que contiene 2,5 µg de PRP conjugado con TT. Estudio 1: Alemania 20-08-1993 a 28-08-1995. Estudio 2 Estados Unidos 24-07-1996 a 28-04-1998. Estudio 3 Myanmar 16-01-1998 a 11-10-1999. † valor de P bilateral usando una prueba ANOVA unilateral para mostrar la diferencia entre los grupos.

Tabla 5: Efecto de IPV en la reducción de la interferencia sobre la respuesta contra Hib, tras la administración concomitante de MenC-CRM197 e Hib-TT para la vacunación primaria a los 2, 3 y 4 meses de edad.

Alemania					Reino Unido			
Vacuna	N	≥ 0,15 µg/ml	GMC	Ref	N	≥ 0.15 µg/ml	GMC	Ref
DTPa3- Hib	387	96,4	2,022 (1,766; 2,316)	[60]	103	96,0	1,56 (1,19; 2,04)	*
DTPa3- Hib + MenC- CRM197†	Sin datos				40	82,5	0,542 (0,343; 0,858)	**
DTPa3- HBV-IPV- Hib	145	99,3	2,62 (2,1; 3,2)	[66]	Sin datos			
DTPa3- HBV-IPV- Hib + MenC- CRM197†	105	97,1	2,78 (2,11; 3,65)	[67]	Sin datos			

5

*Dr IG Jones datos no publicados anteriormente, ** datos no publicados anteriormente, †- Meningitec™

Ejemplo 2

Se realizó un estudio para investigar la respuesta inmunitaria contra PRP de Hib tras la administración conjunta de Infanrix-Hexa con diferentes vacunas con conjugados de neumococos que contenían cantidades diferentes de TT tal como se detalla en la Tabla 6 más adelante.

□ Diseño experimental: estudio multicéntrico, aleatorizado, de ciego simple con 11 grupos paralelos (60 sujetos por grupo); todos los grupos recibieron una tanda de vacunación primaria con tres dosis.

□ Nueve grupos recibieron cada uno una formulación diferente de las vacunas candidato 11Pn-PD-DiT con dosis de cada polisacárido tal como se muestra en la Tabla 6. Además, un grupo recibió la vacuna de primera generación 11Pn-PD (como comparador) y un grupo recibió Prevenar® (como control).

□ Todos los grupos también recibieron una inyección concomitante de vacuna de DTPa-HBV-IPV/Hib.

□ Ciego: ciego simple, sin embargo los nueve grupos de 11Pn-PD-DiT eran de ciego doble

□ Comparador: 11Pn-PD + DTPa-HBV-IPV/Hib

□ Control: Prevenar + DTPa-HBV-IPV/Hib

□ Calendario de vacunación: se administró una tanda de vacunación primaria con tres dosis a bebés, de acuerdo con un calendario de 2-3-4 meses. La primera dosis de la tanda de vacunación con tres dosis se administró entre 8 y 16 semanas (56-118 días) de

edad, con intervalos variables entre la dosis de vacunación primaria de 28-42 días.

☐ Seguimiento de ocho días de los síntomas locales y generales referidos y seguimiento de 31 días para los eventos adversos no referidos después de cada dosis de vacuna. Los eventos adversos se registraron durante todo el periodo del estudio.

☐ Dos muestras de sangre:

- Inmediatamente antes de la 1ª dosis (se extrajeron 4 ml).
- 1 mes después de la 3ª dosis (se extrajeron 4 ml).

☐ Duración del estudio: aproximadamente 6 meses con un periodo de admisión de 3 meses.

Para cada sujeto la duración del estudio era de aproximadamente 3 meses

Tabla 6: Dosis de polisacárido y transportador proteínico para cada serotipo de formulaciones 11Pn-PD-DTT y el n.º de lote

	6B Dosis de PS	18C Dosis de PS	23F Dosis de PS	19F Dosis de PS	1, 3, 4, 5, 7F, 9V y 14 Dosis de PS	Sin PD	Dosis total de TT	N.º de conju gado s en TT	Dosis total de TT en 11Pn- PD- DiT
Forma A	1 µg de TT _{AH}	3 µg de DT _{AH}	1 µg de PD	3 µg de DT	1 µg de PD	-	63 µg	1	3 µg
Forma B	1 µg de TT _{AH}	1 µg de TT _{AH}	1 µg de PD	3 µg de DT	1 µg de PD	-	66 µg	2	6 µg

Forma C	1 µg de TT _{AH}	3 µg de DT _{AH}	1 µg de TT _{AH}	3 µg de DT	1 µg de PD	-	66 µg	2	6 µg
Forma D	1 µg de TT _{AH}	1 µg de TT _{AH}	1 µg de TT _{AH}	3 µg de DT	1 µg de PD	-	69 µg	3	9 µg
Forma E	3 µg de TT _{AH}	1 µg de TT _{AH}	1 µg de TT _{AH}	3 µg de DT	1 µg de PD	-	75 µg	3	15 µg
Forma F	1 µg de TT _{AH}	3 µg de TT _{AH}	1 µg de TT _{AH}	3 µg de DT	1 µg de PD	-	75 µg	3	15 µg
Forma G	1 µg de TT _{AH}	1 µg de TT _{AH}	3 µg de TT _{AH}	3 µg de DT	1 µg de PD	-	75 µg	3	15 µg
Forma H	3 µg de TT _{AH}	1 µg de TT _{AH}	3 µg de TT _{AH}	3 µg de DT	1 µg de PD	-	81 µg	3	21 µg
Forma I	1 µg de TT _{AH}	1 µg de TT _{AH}	1 µg de TT _{AH}	3 µg de DT	1 µg de PD	5 µg	69 µg	3	9 µg

NOTAS: TT_{AH}: toxoide del tétano con espaciado, AH, DT_{AH}: toxoide de difteria con espaciador AH, PD: proteína D de H. influenzae; AH: dihidrazina odípica.

La Tabla 7 muestra las tasas de seroprotección y GMC para los anticuerpos contra el antígeno del polisacárido PRP de Hib, un mes después de la dosis de vacunación III. Un mes después de la tercera dosis de vacuna, todos los sujetos de todos los grupos, a excepción de 1 sujeto en del grupo de Prevenar® (Wyeth), alcanzaron concentraciones de anticuerpos seroprotectoras $\geq 0,15 \mu\text{g/ml}$, y al menos 83,9% de los sujetos que recibieron las formulaciones con 11Pn-PD-DiT alcanzaron una concentración de anticuerpos seroprotectora $\geq 1 \mu\text{g/ml}$. Las GMC contra PRP que se observaron para las formulaciones de 11Pn-PD-DiT

son mayores que las que se observan para los grupos de 11Pn-PD (los 11 polisacáridos conjugados con proteína D) y de Prevenar®.

Tabla 7: Tasas de seroprotección y GMC para anticuerpos contra PRP (cohorte vacunada total)

			≥ 0,15 µg/ml					≥ 1 µg/ml				GMC		
			IC al 95%					IC al 95%				IC al 95%		
Anticuerpo	Grupo	Tiempo	N	n	%	LI	LS	n	%	LI	LS	valor	LI	LS
ANTI-PRP	11Pn-PD	P111 (M3)	58	58	100	93,8	100	40	69,0	55,5	80,5	1,943	1,417	2.665
	DiT F_A	P111 (M3)	57	57	100	93,7	100	48	84,2	72,1	92,5	3,811	2,793	5.200
	DiT F_B	P111 (M3)	64	64	100	94,4	100	58	90,6	80,7	96,5	4,010	3,051	5.270
	DiT F_C	P111 (M3)	58	58	100	93,8	100	52	89,7	78,8	96,1	4,082	3,050	5.465
	DiT F_D	P111 (M3)	60	60	100	94,0	100	51	85,0	73,4	92,9	4,167	3,035	5.721
	DiT F_E	P111 (M3)	56	56	100	93,6	100	52	92,9	82,7	98,0	5,352	3,954	7.244
	DiT F_F	P111 (M3)	62	62	100	94,2	100	52	83,9	72,3	92,0	3,989	2,905	5.478
	DiT F_G	P111 (M3)	58	58	100	93,8	100	50	86,2	74,6	93,9	4,660	3,324	6.535
	DiT F_H	P111 (M3)	62	62	100	94,2	100	53	85,5	74,2	93,1	4,030	3,033	5.354
	DiT F_I	P111 (M3)	65	65	100	94,5	100	61	93,8	85,0	98,3	5,679	4,223	7.638
	Prevenar	P111 (M3)	60	59	98,3	91,1	100	45	75,0	62,1	85,3	2,145	1,546	2.975

GMC = media geométrica de la concentración de anticuerpos calculada en todos los sujetos

N = número de sujetos con resultados disponibles

n/% = número / porcentaje de sujetos con concentración dentro del límite especificado

IC del 95% = intervalo de confianza del 95%;

LI = límite inferior, LS = límite superior

MIN / MAX = Mínimo / Máximo

PIII(M3) = un mes después de la tercera dosis de vacuna.

Anteriormente, la vacuna 11-valente que se describe en el documento EP983087 donde 7 sacáridos se conjugaron con TT dio resultados decepcionantes cuando se administraba al mismo tiempo que DTPa (GAVI Immunisation Focus, marzo de 2002, página 4).

Los presentes inventores han demostrado que existe una correlación de mayor GMC de la respuesta contra PRP y mayor TT en la vacuna con conjugados de neumococo hasta que hay 3-4 conjugados en TT, a partir de lo cual comienza a descender la GMC. Por lo tanto queda claro que la incorporación de una pequeña cantidad administrada conjuntamente de TT produce mejores respuestas inmunitarias contra Hib PRP-TT.

Ejemplo 3

Estudio controlado, de doble ciego, de fase II, aleatorizado para evaluar la viabilidad de una dosis al nacer vacuna acelular contra la tos ferina (Pa) de GlaxoSmithKline (GSK) Biologicals administrada poco después de nacer, seguido de vacunación primaria con 3 dosis de

Infanrix hexa™ de GSK Biologicals, en la aceleración del desarrollo de una respuesta inmunitaria contra la tos ferina. La vacunación primaria se continua en el segundo año de vida con una dosis de refuerzo de Infanrix hexa™.

Diseño del estudio: Estudio de centro único, autolimitado, aleatorizado (1:1), de doble ciego realizado en Alemania con 2 grupos paralelos:

- el grupo de Pa al nacer recibió una dosis de vacuna de tos ferina acelular de tres componentes (Pa) al nacer (que comprende 25 µg de toxoide de la tos ferina (PT), 25 µg de hemaglutinina filamentosa (FHA) y 8 µg de pertactina (PRN))

- El grupo de Hep B al nacer recibió una dosis de vacuna de hepatitis B al nacer.

A los 2, 4 y 6 meses de edad, ambos grupos recibieron la vacuna Infanrix hexa™ de GSK Biologicals (DTPa-HBV-IPV / Hib).

Se extrajo un total de cuatro muestras de sangre en los siguientes tiempo del estudio: antes de la dosis de Pa o HBV al nacer (pre-dosis 1), un mes después de la primera dosis, un mes después de la segunda dosis y un mes después de la tercera dosis de DTPa-HBV-IPV / vacuna de Hib (respectivamente, después de la dosis 1 post-hexa, dosis 2 post-hexa y dosis 3 post-hexa).

Nota: En este estudio se administró un total de cuatro dosis de vacuna del estudio (dosis al nacer + 3 dosis de Infanrix hexa™). Para mayor claridad con respecto a las dosis de las vacunas, la dosis al nacer se denomina dosis 1, y los tiempos posteriores a la vacunación con

Infanrix hexa™ se denomina dosis 1 post-hexa, dosis 2 post-hexa y dosis 3 post-hexa.

Número de sujetos:	Grupo de Pa al nacer	Grupo de HepB al nacer	Total
Planificado	60	60	120
Admitidos y vacunados (=Cohorte vacunada total = cohorte de acuerdo con el protocolo (ATP) para seguridad)	60	61	121
Cohorte ATP para capacidad inmunógena:	55	57	112
Completado	54	56	110
No se produjeron retiradas del estudio debido a eventos adversos o eventos adversos graves			

Un objetivo de este estudio de exploración era evaluar la capacidad inmunógena y la seguridad de una dosis de una vacuna de Pa administrada poco después de nacer, que incluía explorara la capacidad inmunógena de una dosis de Pa al nacer seguida de tres dosis de Infanrix hexa™, comparando con un calendario rutinario de tres dosis de Infanrix hexa™, que comienza a los 2 meses de edad, en cuanto a todos antígenos en cada punto de tiempo en el que se disponía de un resultado serológico.

Resultados de la capacidad inmunógena

Los anticuerpos totales contra el polisacárido PRP de Hib se midieron mediante ELISA. El límite de la prueba era de 0,15 µg/ml.

Respuesta de anticuerpos contra PRP

Las tasas de seroprotección y las GMC para los anticuerpos contra PRP se presentan en la Tabla 8.

Un mes después de la dosis 3 post-hexa. Se observaron niveles seroprotectores ($\geq 0,15 \mu\text{g/ml}$) de anticuerpos contra PRP en 88,7% de los sujetos del grupo de Pa al nacer y 98,2% de sujetos del grupo de HepB al nacer.

Al menos el 49,1% de los sujetos de cada grupo presentaban concentraciones de anticuerpos contra PRP $\geq 1 \mu\text{g/ml}$.

Tabla 8

Tasas de seroprotección y GMC para anticuerpos contra PRP (Cohorte ATP para la capacidad inmunógena)

			$\geq 0,15 \mu\text{g/ml}$				$\geq 1 \mu\text{g/ml}$				GMC			
					IC del 95%				IC del 95%				IC del 95%	
Grupo	Tiempo	N	n	%	LI	LS	n	%	LI	LS	$\mu\text{g/ml}$	LI	LS	
Pa al nacer	PIV (M7)	53	47	88,7	77,0	95,7	26	49,1	35,1	63,2	0,942	0,632	1,403	
HepB al nacer	PIV (M7)	55	54	98,2	90,3	100	38	69,1	55,2	80,9	2,353	1,585	3,493	

GMC = media geométrica de la concentración de anticuerpos, calculada para todos los sujetos. A las concentraciones de anticuerpos por debajo del nivel límite en los ensayos se les asignó un valor arbitrario de la mitad del límite con el fin de calcular la GMC

N = número de sujetos con resultados disponibles
 n/% = número / porcentaje de sujetos con concentración dentro del límite especificado

IC del 95% = intervalo de confianza del 95%; LI = límite inferior, LS = límite superior

PIV(M7) = muestra de sangre extraída un mes después de la tercera dosis de Infanrix hexa™

Las diferencias en las tasas de seroprotección contra PRP ($\geq 0,15$ $\mu\text{g/ml}$ y ≥ 1 $\mu\text{g/ml}$) entre el grupo de Pa al nacer y el grupo de HepB al nacer con con sus IC del 95% asintóticos estandarizados un mes después de la primera y segunda dosis de Infanrix hexa™ para el valor límite de $\geq 0,15$ $\mu\text{g/ml}$ se presentan en la Tabla 9 y en la Tabla 10 para el valor límite ≥ 1 $\mu\text{g/ml}$.

No se observaron diferencias significativas entre el grupo de Pa al nacer y el grupo de HepB al nacer en cuanto a tasa de seroprotección para los anticuerpos contra PRP ($\geq 0,15$ $\mu\text{g/ml}$) en los tiempos de dosis 1 post-hexa o 2 (Tabla 9). El porcentaje de sujetos con anticuerpos contra PRP ≥ 1 $\mu\text{g/ml}$ era estadísticamente significativamente menor en el grupo de Pa al nacer que en el grupo de HBV al nacer en la dosis 2 post-hexa (Tabla 10).

Tabla 9 Diferencias en las tasas de seroprotección para anticuerpos contra PRP ($\geq 0,15 \mu\text{g} / \text{ml}$) entre el grupo de Pa al nacer y el grupo de HepB al nacer con sus IC del 95% asintóticos estandarizados un mes después de la primera y segunda dosis de Infanrix hexa (Cohorte ATP para la capacidad inmunógena)

						Diferencia en las tasa de protección contra PRP (Grupo 2 menos Grupo 1)				
								IC del 95%		
Grupo 1	N	%	Grupo 2	N	%	Diferencia	%	LI	LS	Valor de P
En PII(M3)										
Pa al nacer	53	39,6	HepB al nacer	56	46,4	HepB al nacer - Pa al nacer	6,81	11,70	24,81	0,562
En PIII(M5)										
Pa al nacer	51	70,6	HepB al nacer	52	80,8	HepB al nacer - Pa al nacer	10,18	6,48	26,60	0,257

Grupo de Pa al nacer: recibió vacuna de Pa acelular al nacer e Infanrix hexa™ a los 2, 4, 6 meses de edad

Grupo de HepB al nacer: recibió vacuna de hepatitis B al nacer e Infanrix hexa™ a los 2, 4, 6 meses de edad

PII(M3) = muestra de sangre extraída un mes después de la primera dosis de Infanrix hexa™

PIII(M5) = muestra de sangre extraída un mes después de la segunda dosis de Infanrix hexa™

N = número de sujetos con resultados disponibles

% = porcentaje de sujetos con concentraciones de anticuerpos
contra PRP $\geq 0,15$ Jg/ml

IC del 95% = intervalo de confianza asintótico estandarizado del
95%; LI = límite inferior, LS = límite superior

p-valor = basado en la prueba exacta de Fisher bilateral

Tabla 10 Diferencias en las tasas de seroprotección para anticuerpos contra PRP (≥ 1 μ g / ml) entre el grupo de Pa al nacer y el grupo de HepB al nacer con sus IC del 95% asintóticos estandarizados un mes después de la primera y segunda dosis de Infanrix hexa (Cohorte ATP para la capacidad inmunógena)

						Diferencia en las tasa de protección contra PRP (Grupo 2 menos Grupo 1)				
								IC del 95%		
Grupo 1	N	%	Grupo 2	N	%	Diferencia	%	LI	LS	Valor de P
En PII(M3)										
Pa al nacer	53	5,7	HepB al nacer	56	10,7	HepB al nacer Pa al nacer	5,05	6,14	16,69	0,490
En PIII(M5)										
Pa al nacer	51	15,7	HepB al nacer	52	40,4	HepB al nacer Pa al nacer	24,70	7,54	40,78	0,008

Grupo de Pa al nacer: recibió vacuna de Pa acelular al nacer e
Infanrix hexa™ a los 2, 4, 6 meses de edad

Grupo de HepB al nacer: recibió vacuna de hepatitis B al nacer e Infanrix hexa™ a los 2, 4, 6 meses de edad

PII(M3) = muestra de sangre extraída un mes después de la primera dosis de Infanrix hexa™

PIII(M5) = muestra de sangre extraída un mes después de la segunda dosis de Infanrix hexa™

N = número de sujetos con resultados disponibles

% = porcentaje de sujetos con concentraciones de anticuerpos contra PRP ≥ 1 Jg/ml

IC del 95% = intervalo de confianza asintótico estandarizado del 95%; LI = límite inferior, LS = límite superior

valor p = basado en la prueba exacta de Fisher bilateral.

Las relaciones entre las GMC un mes después de la primera y de la segunda dosis de Infanrix hexa™ para el grupo de Pa al nacer y el grupo de HepB al nacer con IC del 95% se presentan en la Tabla 11.

No se observaron diferencias significativas entre el grupo de Pa al nacer y el grupo de HepB al nacer para las GMC de anticuerpos contra PRP en la dosis 1 post hexa.

En la dosis 2 post-hexa, las GMC de los anticuerpos contra PRP eran significativamente menores en el grupo de Pa al nacer que en el grupo de HBV al nacer.

Tabla 11

Tasas de GMC contra PRP un mes después de la primera y segunda dosis de Infanrix hexa para el grupo de Pa al nacer y el

grupo de HepB al nacer con IC del 95% (Cohorte ATP para la capacidad inmunógena)

							Tasa de GMC		
							IC del 95%		
Grupo	N	GMC	Grupo	N	GMC	Ratio	Valor	LI	LS
En PII(M3)									
Pa al nacer	53	0,146	HepB al nacer	56	0,183	Pa al nacer / HepB al nacer	0,8	0,5	1,2
En PIII(M5)									
Pa al nacer	51	0,304	HepB al nacer	52	0,771	Pa al nacer / HepB al nacer	0,4	0,2	0,7

Grupo de Pa al nacer: recibió vacuna de Pa acelular al nacer e Infanrix hexa™ a los 2, 4, 6 meses de edad

Grupo de HepB al nacer: recibió vacuna de hepatitis B al nacer e Infanrix hexa™ a los 2, 4, 6 meses de edad

PII(M3) = muestra de sangre extraída un mes después de la primera dosis de Infanrix hexa™

PIII(M5) = muestra de sangre extraída un mes después de la segunda dosis de Infanrix hexa™

N = número de sujetos con resultados disponibles

GMC = media geométrica de la concentración de anticuerpos calculada en todos los sujetos

IC del 95% = intervalo de confianza del 95% para la tasa de GMC (modelo ANOVA - varianza conjunta); LI = límite inferior, LS = límite superior

La respuesta inmunitaria al componente de Hib (PRP conjugado con el toxoide del tétanos) de la vacuna primaria estaba significativamente reducida en los receptores de la vacuna Pa al nacer.

También, la GMC de anticuerpos contra el tétanos era significativamente menor en el grupo de Pa al nacer, aunque las tasas de seroprotección eran idénticas (100%) en los dos grupos. Los mecanismos que subyacen este efecto son desconocidos, aunque puede deberse a la interferencia inespecífica provocada por Pa al nacer sobre PRP-TT durante la inmunización primaria combinada con Pa.

El hecho de que la dosis al nacer de vacuna de Pa y la vacuna de DTPa-HBV-IPV/Hib se administraran en la misma pantorrilla puede haber desempeñado un papel.

Las RCC para las concentraciones de anticuerpos contra PRP un mes después de la tercera dosis de Infanrix hexa™ se presentan en la Figura 3.

Resultados de la capacidad inmunógena del estudio del refuerzo

TABLA 12

Tasas de seroprotección y GMC para anticuerpos contra PRP (Cohorte ATP para la capacidad inmunógena)

>= 0,15 µl/ml		>= 1 µl/ml		GMC	
	IC del 95%		IC del 95%		IC del 95%

Anticue rpo	Grup o	Tiem po	N	n	%	LI	LS	n	%	LI	LS	valor	LI	LS
ANTI- PRP	Pa	PIV(M 0)	29	17	58,6	38,9	76,5	0	0,0	0,0	11,9	0,200	0,139	0,286
		PV(M 1)	29	29	100	88,1	100	25	86,2	68,3	96,1	8,400	4,473	15,775
	HepB	PIV(M 0)	33	25	75,8	57,7	88,9	9	27,3	13,3	45,5	0,448	0,274	0,732
		PV(M 1)	35	35	100	90,0	100	35	100	90,0	100	22,911	15,287	34,336

- 1. Pa = Pa al nacer y DTPa-HBV-IPV / Hib a los 2-4-6 meses y refuerzo
- 2. HepB = HBV al nacer y DTPa-HBV-IPV / Hib a los 2-4-6 meses y refuerzo
- 3. Seroprotección = concentración de anticuerpo contra PRP >= 0,15 µl/ml
- 4. GMC = media geométrica de la concentración media de anticuerpos calculada en todos los sujetos
- 5. N = número de sujetos con resultados disponibles
- 6. n/% = número / porcentaje de sujetos con concentración dentro del límite especificado
- 7. IC del 95% = intervalo de confianza del 95%; LI = límite inferior, LS = límite superior
- 8. PIV(M0) = Pre-refuerzo
- 9. PV(M1) = Un mes después del refuerzo

TABLA 13

Diferencia entre grupos en la tasa de seroprotección contra PRP antes del refuerzo (Cohorte ATP para la capacidad inmunógena)

						Diferencia en la tasa de seroprotección (Grupo 2 menos Grupo 1)				
								IC del 95%		
Grupo 1	N	%	Grupo 2	N	%	Diferencia	%	LI	LS	Valor de P
Pa	29	58,6	HepB	33	75,8	HepB - Pa	17,14	6,17	39,26	0,181

- 1. Pa = Pa al nacer y DTPa-HBV-IPV / Hib a los 2-4-6 meses y refuerzo
- 2. HepB = HBV al nacer y DTPa-HBV-IPV / Hib a los 2-4-6 meses y refuerzo
- 3. N = número de sujetos con resultados disponibles
- 4. % = porcentaje de sujetos con concentración anti-PRP >= 0,15 µl / ml
- 5. IC del 95% = intervalo de confianza asintótico estandarizado del 95%; LI = límite inferior, LS = límite superior
- 6. Valor de P = prueba exacta de Fisher bilateral

TABLA 14 Diferencia entre grupos en la concentración de anticuerpos contra PRP >=1UG / ml antes del refuerzo (Cohorte ATP para la capacidad inmunógena)

						Diferencia en la concentración de anticuerpos contra PRP >=1 µg/ml (Grupo 2 menos Grupo 1)				
								IC del 95%		
Grupo 1	N	%	Grupo 2	N	%	Diferencia	%	LI	LS	Valor de P
Pa	29	0,0	HepB	33	27,3	HepB - Pa	27,27	14,21	44,22	0,002

- 1. Pa = Pa al nacer y DTPa-HBV-IPV / Hib a los 2-4-6 meses y refuerzo
- 2. HepB = HBV al nacer y DTPa-HBV-IPV / Hib a los 2-4-6 meses y refuerzo
- 3. N = número de sujetos con resultados disponibles
- 4. % = porcentaje de sujetos con concentración anti-PRP >= 1 µl / ml
- 5. IC del 95% = intervalo de confianza asintótico estandarizado del 95%; LI = límite inferior, LS = límite superior
- 6. Valor de P = prueba exacta de Fisher bilateral

TABLA 15

Diferencia entre grupos en la tasa de seroprotección contra PRP un mes después del refuerzo (Cohorte ATP para la capacidad inmunógena)

						Diferencia en la tasa de seroprotección (Grupo 2 menos Grupo 1)				
								IC del 95%		
Grupo 1	N	%	Grupo 2	N	%	Diferencia	%	LI	LS	Valor de P
Pa	29	100	HepB	35	100	HepB - Pa	0,00	9,89	11,70	.

1. Pa = Pa al nacer y DTPa-HBV-IPV / Hib a los 2-4-6 meses y refuerzo
2. HepB = HBV al nacer y DTPa-HBV-IPV / Hib a los 2-4-6 meses y refuerzo
3. N = número de sujetos con resultados disponibles
4. % = porcentaje de sujetos con concentración anti-PRP $\geq 0,15$ $\mu\text{l} / \text{ml}$
5. IC del 95% = intervalo de confianza asintótico estandarizado del 95%; LI = límite inferior, LS = límite superior
6. Valor de P = prueba exacta de Fisher bilateral

TABLA 16 Diferencia entre grupos en la concentración de anticuerpos contra PRP $\geq 1,0 \mu\text{l} / \text{ml}$ un mes después del refuerzo (Cohorte ATP para la capacidad inmunógena)

						Diferencia en la concentración de anticuerpos contra PRP $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ (Grupo 2 menos Grupo 1)				
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

								IC del 95%		
Grupo 1	N	%	Grupo 2	N	%	Diferencia	%	LI	LS	Valor de P
Pa	29	86,2	HepB	35	100	HepB Pa	13,79	3,17	30,56	0,037

1. Pa = Pa al nacer y DTPa-HBV-IPV / Hib a los 2-4-6 meses y refuerzo
2. HepB = HBV al nacer y DTPa-HBV-IPV / Hib a los 2-4-6 meses y refuerzo
3. N = número de sujetos con resultados disponibles
4. % = porcentaje de sujetos con concentración anti-PRP >= 1 µl / ml
5. IC del 95% = intervalo de confianza asintótico estandarizado del 95%; LI = límite inferior, LS = límite superior
6. Valor de P = prueba exacta de Fisher bilateral

TABLA 17

Tasas de GMC contra PRP un mes después del refuerzo
(cohorte de ATP para la capacidad inmunógena)

				Tasa de GMC (Pa / HepB)		
Pa		HepB			IC del 95%	
N	GMC	N	GMC	Valor	LI	LS
29	8,400	35	22,911	0,37	0,18	0,75

1. Pa = Pa al nacer y DTPa-HBV-IPV / Hib a los 2-4-6 meses y refuerzo
2. HepB = HBV al nacer y DTPa-HBV-IPV / Hib a los 2-4-6 meses y refuerzo
3. GMC = media geométrica de la concentración media de anticuerpos calculada
4. N = número de sujetos con resultados post-vacunación disponibles
5. IC del 95% = intervalo de confianza del 95% para la proporción de GMC (Modelo Anova - varianza conjunta); LI = límite inferior; LS = límite superior

REIVINDICACIONES

1. Un kit que comprende al menos nueve conjugados de sacáridos, en el que entre dos y siete conjugados de sacáridos inclusive están conjugados con la proteína transportadora CRM, siendo adecuado dicho kit para usar en un calendario de inmunización primaria, comprendiendo dicho kit:

un primer envase que comprende

a) un conjugado de sacáridos de Hib en presencia de CRM, DT o cualquier otro derivado de DT, pero que no está conjugado con la CRM, DT o cualquier otro derivado de DT;

b) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos conjugado con CRM; y

c) opcionalmente al menos otro conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,

y un segundo envase que comprende

d) al menos un conjugado de sacáridos conjugado con CRM;

e) opcionalmente al menos otro conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,

y opcionalmente un tercer envase que opcionalmente comprende al menos un conjugado de sacáridos, en el que

f) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos está conjugado con CRM;

g) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

2. El kit de la reivindicación 1, en el que la dosis media de CRM por conjugado de sacáridos conjugado con CRM presente en el kit es de 1-15 μg , 1-10 μg , 1-5 μg o 1-3 μg .

3. El kit de la reivindicación 1 ó 2, en el que la carga total de CRM del kit es inferior a 35 μg , por ejemplo 2-30 μg , 5-25 μg o 10-20 μg .

4. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el conjugado de sacáridos de Hib está presente a una dosis de 1-15, 2-10, 3-8, o 4-6 μg de sacárido, por ejemplo aproximadamente 10 μg de sacárido.

5. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el conjugado de sacáridos de Hib está presente a una dosis de aproximadamente 2,5 μg de sacárido.

6. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el conjugado de sacáridos de Hib no está adsorbido sobre sales de aluminio o está adsorbido sobre fosfato de aluminio.

7. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el primer o tercer envase además comprende antígeno superficial de la hepatitis B (HB), opcionalmente adsorbido sobre fosfato de aluminio.
8. El kit de la reivindicación 7, en el que el antígeno superficial de HB está presente a una dosis de aproximadamente 10 µg.
9. Un kit que comprende al menos siete conjugados de sacáridos, en el que entre dos y seis conjugados de sacáridos inclusive están conjugados con la proteína transportadora CRM, siendo dicho kit adecuado para usar en un calendario de inmunización primaria, comprendiendo dicho kit:
- un primer envase que comprende
 - a) HB en presencia de CRM, DT o cualquier otro derivado de DT, opcionalmente adsorbido sobre fosfato de aluminio;
 - b) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos conjugado con CRM; y
 - c) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,
 - y un segundo envase que comprende
 - d) al menos un conjugado de sacáridos conjugado con CRM;
 - e) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,
 - y opcionalmente un tercer envase que opcionalmente comprende al menos un conjugado de sacáridos en el que

f) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos está conjugado con CRM;

g) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

10. El kit de la reivindicación 9, en el que la dosis media de CRM por conjugado de sacáridos conjugado con CRM presente en el kit es de 1-9 μg , 1-6 μg , 1-5 μg o 1-3 μg .

11. El kit de la reivindicación 9 ó 10, en el que la carga total de CRM del kit es inferior a 20 μg , por ejemplo 2-18 μg o 5-15 μg .

12. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 9-11, en el que el antígeno superficial de HB está presente a una dosis de aproximadamente 10 μg .

13. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 9-12, que comprende además conjugado de sacáridos de Hib en el primer, segundo o tercer envase.

14. El kit de la reivindicación 13, en el que el conjugado de sacáridos de Hib está presente a una dosis de 1-15, 2-10, 3-8, o 4-6 μg de sacárido, por ejemplo aproximadamente 10 μg de sacárido.

15. El kit de la reivindicación 13 ó 14, en el que el conjugado de sacáridos de Hib está presente a una dosis de aproximadamente 2,5 µg de sacárido.
16. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 13-15, en el que el conjugado de sacáridos de Hib no está adsorbido sobre sales de aluminio o está adsorbido sobre fosfato de aluminio.
17. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en el que el primer envase comprende al menos un conjugado de sacáridos conjugado con CRM.
18. Un kit que comprende al menos ocho conjugados de sacáridos conjugados con proteína transportadora CRM, adecuado para usar en un calendario de inmunización primaria, comprendiendo dicho kit:
- un primer envase que comprende
 - a) un antígeno sensible que no está en presencia de CRM, DT o cualquier otro derivado de DT; y
 - b) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,
 - y un segundo envase que comprende
 - c) al menos siete, ocho, diez, once o trece conjugados de sacáridos conjugados con CRM;
 - d) opcionalmente al menos otro conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,

y opcionalmente un tercer envase que opcionalmente comprende al menos un conjugado de sacáridos en el que

e) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos está conjugado con CRM;

f) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

19. El kit de la reivindicación 18, en el que el antígeno sensible es conjugado de sacáridos de Hib, no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

20. El kit de la reivindicación 19, en el que el conjugado de sacáridos de Hib está presente a una dosis de 1-15, 2-10, 3-8, o 4-6 μg de sacárido, por ejemplo aproximadamente 10 μg de sacárido.

21. El kit de la reivindicación 19 ó 20, en el que el conjugado de sacáridos de Hib está presente a una dosis de aproximadamente 2,5 μg de sacárido.

22. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 19-21, en el que el conjugado de sacáridos de Hib no está adsorbido sobre sales de aluminio o está adsorbido sobre fosfato de aluminio.

23. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 18-22, en el que el antígeno sensible es HB, opcionalmente adsorbido sobre fosfato de aluminio.
24. El kit de la reivindicación 23, en el que el antígeno superficial de HB está presente a una dosis de aproximadamente 10 µg.
25. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-24, en el que el primer envase comprende al menos un conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.
26. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-25, en el que el segundo envase comprende al menos un conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.
27. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-26 que comprende un tercer envase.
28. El kit de la reivindicación 27, en el que el tercer envase comprende al menos un conjugado de sacáridos que está conjugado con CRM.
29. El kit de la reivindicación 27 ó 28, en el que el tercer envase comprende al menos un conjugado de sacáridos que no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

30. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-29, en el que el primer envase comprende además una vacuna de DTP (si fuera apropiado), o en el que el tercer envase está presente en el kit y comprende una vacuna de DTP.

31. El kit de la reivindicación 30, en el que está presente DT, opcionalmente a una dosis entre 10-120 μg , 50-100 μg , 70-100 μg o 80-95 μg .

32. El kit de la reivindicación 30 ó 31, en el que está presente TT, opcionalmente a una dosis entre 10- 60 μg , 20-50 μg o 30-48 μg .

33. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 30-32, en el que la vacuna de DTP comprende Pa.

34. El kit de la reivindicación 33, en el que la Pa comprende PT (o un derivado de PT), FHA y pertactina (PRN).

35. El kit de la reivindicación 33 ó 34, en el que está presente PT (o derivado de PT) en Pa y está a una dosis que no supera 10 μg , 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 μg por dosis de 0,5 ml.

36. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 33-35, en el que está presente FHA en Pa y está a una dosis que no supera 10 μg , 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 μg por dosis de 0,5 ml.
37. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 33-36, en el que está presente PRN en Pa y está a una dosis que no supera 6 μg , 0,5-6, 0,8-5, 1-4, 2-3 μg por dosis de 0,5 ml.
38. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 33-37, en el que está presente PT a una dosis de aproximadamente 2,5 μg , está presente FHA a una dosis de aproximadamente 2,5 μg y está presente PRN a una dosis de aproximadamente 0,8 μg por dosis de 0,5 ml.
39. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 33-37, en el que está presente PT a una dosis de aproximadamente 5 μg , está presente FHA a una dosis de aproximadamente 5 μg y está presente PRN a una dosis de aproximadamente 2,5 μg por dosis de 0,5 ml.
40. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 30-32, en el que la vacuna de DTP comprende Pw.
41. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-40, en el que el primer o tercer envase además comprende IPV.

42. El kit de la reivindicación 41, en el que el IPV está presente a una dosis de aproximadamente 40 D-unidades de antígeno de IPV-1, 8 D-unidades de antígeno de IPV-2 y 32 D-unidades de antígeno de IPV-3.
43. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-42, en el que el / los conjugado(s) de sacáridos conjugado(s) con CRM en el segundo envase es / son un conjugado de sacáridos capsulares de neumococo.
44. El kit de la reivindicación 43, en el que el segundo envase comprende una vacuna con conjugado de sacáridos capsulares de neumococo 13-valente.
45. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-44, en el que el / los conjugado(s) de sacáridos conjugados con CRM en el segundo envase es / son un conjugado de sacáridos capsulares de *Neisseria meningitidis*.
46. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-45, en el que el tercer envase comprende una vacuna de DTP.
47. El kit de la reivindicación 46, en el que está presente DT, opcionalmente a una dosis entre 10-120 µg, 50-100 µg, 70-100 µg o 80-95 µg.
48. El kit de la reivindicación 46 ó 47, en el que está presente TT, opcionalmente a una dosis entre 10- 60 µg, 20-50 µg o 30-48 µg.

49. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 46-48, en el que la vacuna de DTP comprende Pa.
50. El kit de la reivindicación 49, en el que la Pa comprende PT (o un derivado de PT), FHA y pertactina (PRN).
51. El kit de la reivindicación 49 ó 50, en el que está presente PT (o derivado de PT) en Pa y está a una dosis que no supera 10 μg , 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 μg por dosis de 0,5 ml.
52. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 49-51, en el que está presente FHA en Pa y está a una dosis que no supera 10 μg , 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 μg por dosis de 0,5 ml.
53. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 49-52, en el que está presente PRN en Pa y está a una dosis que no supera 6 μg , 0,5-6, 0,8-5, 1-4, 2-3 μg por dosis de 0,5 ml.
54. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 49-53, en el que está presente PT a una dosis de aproximadamente 2,5 μg , está presente FHA a una dosis de aproximadamente 2,5 μg y está presente PRN a una dosis de aproximadamente 0,8 μg por dosis de 0,5 ml.

55. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 49-53, en el que está presente PT a una dosis de aproximadamente 5 µg, está presente FHA a una dosis de aproximadamente 5 µg y está presente PRN a una dosis de aproximadamente 2,5 µg por dosis de 0,5 ml.
56. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 46-48, en el que la vacuna de DTP comprende Pw.
57. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 43-56, en el que el tercer envase además comprende IPV.
58. El kit de la reivindicación 57, en el que el IPV está presente a una dosis de aproximadamente 40 D-unidades de antígeno de IPV-1, 8 D-unidades de antígeno de IPV-2 y 32 D-unidades de antígeno de IPV- 3.
59. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-58, en el que el tercer envase comprende uno o más conjugado(s) de sacáridos capsulares de *Neisseria meningitidis*, opcionalmente conjugados con CRM, y/o en el que el primer envase comprende uno o más conjugado(s) de sacáridos capsulares de *Neisseria meningitidis*, opcionalmente no conjugados con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.
60. El kit de la reivindicación 18, en el que el primer envase comprende conjugados de sacáridos capsulares Hib-MenC, no

conjugados con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT, opcionalmente conjugados con TT.

61. El kit de la reivindicación 60, en el que el segundo envase comprende una vacuna con conjugado de sacáridos capsulares de neumococo conjugado con CRM 13-valente.

62. El kit de la reivindicación 60 ó 61, en el que el tercer envase comprende una vacuna de DTP.

63. Un kit de vacuna que comprende siete o más conjugados de sacáridos en el que menos de siete conjugados de sacáridos están conjugados con la proteína transportadora CRM, siendo dicho kit adecuado para usar en un calendario de inmunización primaria, comprendiendo dicho kit:

un primer envase que comprende

a) conjugado de sacáridos de Hib, no conjugado con CRM, DT o ningún otro derivado de DT;

b) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT,

y un segundo envase que comprende

c) menos de siete sacáridos conjugados con CRM,

y opcionalmente un tercer envase que comprende

d) opcionalmente al menos un conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

64. El kit de la reivindicación 63, en el que el al menos un conjugado de sacáridos está presente en el primer envase y no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

65. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 63 ó 64 que comprende un tercer envase que comprende al menos un conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

66. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 63-65, en el que el conjugado de sacáridos de Hib del primer envase no está en presencia de CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

67. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 63-65, en el que el conjugado de sacáridos de Hib del primer envase está en presencia de CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

68. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 63-67, en el que el primer envase comprende un conjugado de sacáridos capsulares de *Neisseria meningitidis*, no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT.

69. El kit de la reivindicación 68, en el que el conjugado de sacáridos capsulares de *Neisseria meningitidis* del primer envase está conjugado con TT.

70. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 63-69, en el que DT sólo está presente en el kit en forma de DT libre.

71. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 63-70, en el que el primer envase comprende además una vacuna de DTP, o en el que el tercer envase está presente en el kit y comprende una vacuna de DTP.

72. El kit de la reivindicación 71, en el que está presente DT, opcionalmente a una dosis entre 10-120 µg, 50-100 µg, 70-100 µg o 80-95 µg.

73. El kit de la reivindicación 71 ó 72, en el que está presente TT, opcionalmente a una dosis entre 10- 60 µg, 20-50 µg o 30-48 µg.

74. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 71-73, en el que la vacuna de DTP comprende Pa.

75. El kit de la reivindicación 74, en el que la Pa comprende PT (o un derivado de PT), FHA y pertactina (PRN).

76. El kit de la reivindicación 74 ó 75, en el que está presente PT (o derivado de PT) en Pa y está a una dosis que no supera 10 µg, 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 µg por dosis de 0,5 ml.

77. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 74-76, en el que está presente FHA en Pa y está a una dosis que no supera 10 μg , 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 μg por dosis de 0,5 ml.

78. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 74-77, en el que está presente PRN en Pa y está a una dosis que no supera 6 μg , 0,5-6, 0,8-5, 1-4, 2-3 μg por dosis de 0,5 ml.

79. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 74-78, en el que está presente PT a una dosis de aproximadamente 2,5 μg , está presente FHA a una dosis de aproximadamente 2,5 μg y está presente PRN a una dosis de aproximadamente 0,8 μg por dosis de 0,5 ml.

80. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 74-78, en el que está presente PT a una dosis de aproximadamente 5 μg , está presente FHA a una dosis de aproximadamente 5 μg y está presente PRN a una dosis de aproximadamente 2,5 μg por dosis de 0,5 ml.

81. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 71-73, en el que la vacuna de DTP comprende Pw.

82. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 63-81, en el que el primer o tercer envase además comprende IPV.

83. El kit de la reivindicación 82, en el que el IPV está presente a una dosis de aproximadamente 40 D-unidades de antígeno de IPV-1, 8 D-unidades de antígeno de IPV-2 y 32 D-unidades de antígeno de IPV-3.

84. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 63-83, en el que el primer o tercer envase además comprende HB, opcionalmente adsorbido sobre fosfato de aluminio.

85. El kit de la reivindicación 84, en el que el antígeno superficial de HB está presente a una dosis de aproximadamente 10 µg.

86. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 63-85, que comprende un tercer envase.

87. El kit de la reivindicación 86, en el que el tercer envase no contiene CRM.

88. El kit de las reivindicaciones 86 ó 87, en el que el tercer envase comprende uno o más conjugado(s) de sacáridos capsulares de *Neisseria meningitidis*, opcionalmente conjugado(s) con TT.

89. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 86-88, en el que el tercer envase además comprende una vacuna de DTP.

90. El kit de la reivindicación 89, en el que está presente DT, opcionalmente a una dosis entre 10- 120 µg, 50-100 µg, 70-100 µg o 80-95 µg.

91. El kit de la reivindicación 89 ó 90, en el que está presente TT, opcionalmente a una dosis entre 10- 60 µg, 20-50 µg o 30-48 µg.

92. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 89-91, en el que la vacuna de DTP comprende Pa.

93. El kit de la reivindicación 92, en el que la Pa comprende PT (o un derivado de PT), FHA y pertactina (PRN).

94. El kit de la reivindicación 92 ó 93, en el que está presente PT (o derivado de PT) en Pa y está a una dosis que no supera 10 µg, 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 µg por dosis de 0,5 ml.

95. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 92-94, en el que está presente FHA en Pa y está a una dosis que no supera 10 µg, 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 µg por dosis de 0,5 ml.

96. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 92-95, en el que está presente PRN en Pa y está a una dosis que no supera 6 µg, 0,5-6, 0,8-5, 1-4, 2-3 µg por dosis de 0,5 ml.

97. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 92-96, en el que está presente PT a una dosis de aproximadamente 2,5 µg, está presente FHA a una dosis de aproximadamente 2,5 µg y está presente PRN a una dosis de aproximadamente 0,8 µg por dosis de 0,5 ml.

98. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 92-96, en el que está presente PT a una dosis de aproximadamente 5 µg, está presente FHA a una dosis de aproximadamente 5 µg y está presente PRN a una dosis de aproximadamente 2,5 µg por dosis de 0,5 ml.

99. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 89-91, en el que la vacuna de DTP comprende Pw.

100. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 86-99, en el que el tercer envase además comprende IPV.

101. El kit de la reivindicación 100, en el que el IPV está presente a una dosis de aproximadamente 40 D-unidades de antígeno de IPV-1, 8 D-unidades de antígeno de IPV-2 y 32 D-unidades de antígeno de IPV-3.

102. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 86-101, en el que el tercer envase además comprende HB, opcionalmente adsorbido sobre fosfato de aluminio.

103. El kit de la reivindicación 102, en el que el antígeno superficial de HB está presente a una dosis de aproximadamente 10 µg.

104. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 63-103, en el que ningún conjugado de sacáridos del kit está conjugado con CRM.

105. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 63-104, en el que 1, 2 ó 3 conjugados de sacáridos del kit están conjugados con DT, opcionalmente en el segundo envase.

106. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 63-105, en el que 1, 2, 3 ó 4 conjugados de sacáridos del kit están conjugados con TT, opcionalmente en el segundo envase.

107. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 63-106, que comprende Synflorix, opcionalmente en el segundo envase.

108. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 71-107, en el que la vacuna de DTPa es Infanrix- Hexa.

109. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 71-107, en el que la vacuna de DTPa es Pediacel.

110. Una vacuna combinada adecuada para la inmunización primaria que comprende nueve o más conjugados de sacáridos;

a) en la que conjugado de sacáridos de Hib está presente pero no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT;

b) en la que entre dos y siete conjugados de sacáridos inclusive están conjugados con CRM;

c) en la que otro u otros conjugado(s) de sacáridos no está conjugado con CRM.

111. La vacuna combinada de la reivindicación 110, en la que la dosis media de CRM por conjugado de sacáridos conjugado con CRM presente en el kit es 1-15 μg , 1-10 μg , 1- 5 μg o 1-3 μg .

112. La vacuna combinada de la reivindicación 110 ó 111, en la que la carga total de CRM del kit es menos de 35 μg , por ejemplo 2-30 μg , 5-25 μg o 10-20 μg .

113. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 110-112, que comprende además HB, opcionalmente adsorbido sobre fosfato de aluminio.

114. La vacuna combinada de la reivindicación 113, en la que el antígeno superficial de HB está presente a una dosis de aproximadamente 10 μg .

115. Una vacuna combinada adecuada para la inmunización primaria que comprende siete o más sacáridos;

- a) en la que está presente HB;
- b) en la que entre dos y seis conjugados de sacáridos inclusive están conjugados con CRM;
- c) en la que otro u otros conjugado(s) de sacáridos no están conjugados con CRM.

116. La vacuna combinada de la reivindicación 115, en la que la dosis media de CRM por conjugado de sacáridos conjugado con CRM presente en el kit es de 1-9 μg , 1-6 μg , 1- 5 μg o 1-3 μg .

117. La vacuna combinada de la reivindicación 115 ó 116, en la que la carga total de CRM del kit es menos de 20 μg , por ejemplo 2-18 μg o 5-15 μg .

118. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 115-117, en la que el antígeno superficial de HB está adsorbido sobre fosfato de aluminio y está opcionalmente presente a una dosis de aproximadamente 10 μg .

119. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 115-118, que comprende además conjugado de sacáridos de Hib.

120. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 110-119, en la que el conjugado de sacáridos de Hib está presente a una

dosis de 1-15, 2-10, 3-8, o 4-6 μg de sacárido, por ejemplo aproximadamente 10 μg de sacárido.

121. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 110-120, en la que el conjugado de sacáridos de Hib está presente a una dosis de aproximadamente 2,5 μg de sacárido.

122. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 110-121, en la que el conjugado de sacáridos de Hib está conjugado con TT.

123. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 110-122, en la que uno, dos o tres conjugados de sacáridos distintos del conjugado de sacáridos de Hib están conjugados con TT.

124. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 110-123, en la que el conjugado de sacáridos de Hib no está adsorbido sobre sales de aluminio o está adsorbido sobre fosfato de aluminio.

125. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 110-124, en la que los conjugados de sacáridos conjugados con CRM son conjugados de sacáridos capsulares de neumococo.

126. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 110-125, en la que el otro u otros conjugado(s) de sacáridos es conjugado de sacáridos capsulares de *Neisseria meningitidis*.

127. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 110-126, que comprende además una vacuna de DTP.

128. La vacuna combinada de la reivindicación 127, en la que está presente DT, opcionalmente a una dosis entre 10-120 μg , 50-100 μg , 70-100 μg o 80-95 μg .

129. La vacuna combinada de la reivindicación 127 ó 128, en la que está presente TT, opcionalmente a una dosis entre 10-60 μg , 20-50 μg o 30-48 μg .

130. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 127-129, en la que la vacuna de DTP comprende Pa.

131. La vacuna combinada de la reivindicación 130, en la que la Pa comprende PT (o un derivado de PT), FHA y pertactina (PRN).

132. La vacuna combinada de la reivindicación 130 ó 131, en la que está presente PT (o un derivado de PT) en Pa y está a una dosis que no supera 10 μg , 1-9, 1,5- 8, 2-6, 2,5-5 μg por dosis de 0,5 ml.

133. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 130-132, en la que está presente FHA en Pa y está a una dosis que no supera 10 μg , 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 μg por dosis de 0,5 ml.

134. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 130-133, en la que está presente PRN en Pa y está a una dosis que no supera 6 μg , 0,5-6, 0,8-5, 1-4, 2-3 μg por dosis de 0,5 ml.

135. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 130-134, en la que está presente PT a una dosis de aproximadamente 2,5 μg , está presente FHA a una dosis de aproximadamente 2,5 μg y está presente PRN a una dosis de aproximadamente 0,8 μg por dosis de 0,5 ml.

136. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 130-134, en la que está presente PT a una dosis de aproximadamente 5 μg , está presente FHA a una dosis de aproximadamente 5 μg y está presente PRN a una dosis de aproximadamente 2,5 μg por dosis de 0,5 ml.

137. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 127-129, en la que la vacuna de DTP comprende Pw.

138. La vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 110-137, que comprende además IPV.

139. La vacuna combinada de la reivindicación 138, en la que el IPV está presente a una dosis de aproximadamente 40 D-unidades de

antígeno de IPV-1, 8 D-unidades de antígeno de IPV-2 y 32 D-unidades de antígeno de IPV-3.

140. Un procedimiento de administrar el kit o vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 1-139 en un calendario de inmunización primaria.

141. El procedimiento de la reivindicación 140, en el que Pa se administra al nacer y DTPa- Hib se administra dentro del calendario de inmunización primaria.

142. Un procedimiento de administrar los componentes del kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-109, en el que el contenido del primer envase se administra conjuntamente con el contenido del segundo envase.

143. Un procedimiento de administrar los componentes del kit de cualquiera de las reivindicaciones 1-109, en el que el contenido del primer envase se administra de forma alternante con el contenido del segundo envase.

144. El procedimiento de la reivindicación 142, en el que el contenido del tercer envase se administra conjuntamente con el contenido de los envases primero y segundo.

145. El procedimiento de la reivindicación 143, en el que el contenido del tercer envase se administra conjuntamente con el contenido del primer envase.

146. El procedimiento de la reivindicación 143, en el que el contenido del tercer envase se administra conjuntamente con el contenido del segundo envase.

147. El procedimiento de la reivindicación 143, en el que el contenido del tercer envase se administra de forma alternante con el contenido de los envases primero y segundo.

148. Un procedimiento de disminuir la interferencia inespecífica de CRM sobre un antígeno sensible en un calendario de inmunización primaria de una vacuna que comprende una o más de las siguientes etapas

a) disminuir la cantidad de CRM y/o el número de conjugados en CRM de la vacuna;

b) incluir IPV en la vacuna que comprende el antígeno sensible;

c) incluir Pw en la vacuna que comprende el antígeno sensible;

d) disminuir la dosis de DT de la vacuna que comprende el antígeno sensible;

e) aumentar la dosis del antígeno sensible;

f) si Pa está presente en la vacuna que comprende antígeno sensible, reducir la dosis de Pa o el número de componentes de Pa;

g) eliminar CRM de la vacuna que comprende el antígeno sensible, o eliminar CRM completamente del kit, o eliminar CRM, DT y los derivados de DT de la vacuna que comprende el antígeno sensible.

149. El procedimiento de la reivindicación 148, en el que el antígeno sensible es Hib no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT o HB.

150. El procedimiento de la reivindicación 148 ó 149, que comprende la etapa adicional de incluir TT adicional en la vacuna si el conjugado de sacáridos de Hib está presente y está conjugado con TT.

151. El procedimiento de la reivindicación 150, en el que se proporciona TT adicional en un envase separado del conjugado de sacáridos de Hib, para la administración conjunta.

152. El procedimiento de la reivindicación 150 ó 151, en el que el TT adicional está conjugado con no más de otros tres sacáridos.

153. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 148-152, en el que si está presente Pa, está presente PT (o derivado de PT) en Pa y está a una dosis que no supera 10 µg, 1-9, 1,5- 8, 2-6, 2,5-5 µg por dosis de 0,5 ml.

154. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 148-153, en el que si está presente Pa, está presente FHA en Pa y está a una dosis que no supera 10 μg , 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 μg por dosis de 0,5 ml.

155. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 148-154, en el que si está presente Pa, está presente PRN en Pa y está a una dosis que no supera 6 μg , 0,5-6, 0,8-5, 1-4, 2-3 μg por dosis de 0,5 ml.

156. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 148-155, en el que si está presente Pa, está presente PT a una dosis de aproximadamente 2,5 μg , está presente FHA a una dosis de aproximadamente 2,5 μg y está presente PRN a una dosis de aproximadamente 0,8 μg por dosis de 0,5 ml.

157. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 148-155, en el que si está presente Pa, está presente PT a una dosis de aproximadamente 5 μg , está presente FHA a una dosis de aproximadamente 5 μg y está presente PRN a una dosis de aproximadamente 2,5 μg por dosis de 0,5 ml.

158. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 148-157, en el que PT es recombinante.

159. El procedimiento de la reivindicación 158, en el que se reduce la dosis de PT.

160. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 148-159 en el que se proporciona TT adicional mediante la administración conjunta de Synflorix.

161. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 148-160, en el que se proporciona TT adicional mediante la administración conjunta de MenC-TT e Infanrix-hexa.

162. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 148-161, en el que se proporciona IPV mediante Infanrix-hexa.

163. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 148-162, en el que el conjugado de sacáridos de Hib se administra de forma separada de la vacuna de DTP-IPV-HB.

164. Un procedimiento de disminuir la interferencia inespecífica en un antígeno sensible cuando se usa un kit que comprende ocho o más conjugados de sacáridos conjugados con CRM, que comprende un primer envase que comprende

a) un(os) antígeno(s) sensible(s) en presencia de CRM, DT o cualquier otro derivado de DT;

y un segundo envase que comprende

b) siete o más conjugados de sacáridos conjugados con CRM;

c) opcionalmente al menos otro conjugado de sacáridos no conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT;

y opcionalmente un tercer envase que opcionalmente comprende al menos un conjugado de sacáridos que está

d) opcionalmente conjugado con CRM;

e) opcionalmente no conjugado con CRM,

que comprende la etapa de eliminar todo CRM, DT o cualquier otro derivado de DT del envase que comprende el antígeno sensible o reducir el número de conjugados de sacáridos conjugados con CRM a no más de siete.

165. Un procedimiento de inmunizar contra una enfermedad provocada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, *Haemophilus influenzae* de tipo b, *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis* usando el kit o vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 1-156, en el que

a) cada antígeno del kit o la vacuna combinada se administra 2-3 veces en un calendario de inmunización primaria;

b) Hib no está conjugado con CRM, DT o cualquier otro derivado de DT;

c) hay 7 o más antígenos conjugados de sacáridos capsulares de *Streptococcus pneumoniae*;

d) el número de antígenos de sacáridos capsulares de *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis* conjugados con CRM es inferior a 8.

166. El procedimiento de la reivindicación 165, en el que los conjugados de antígenos de sacáridos de *Streptococcus pneumonia* están comprendidos en Synflorix.

167. El procedimiento de la reivindicación 165 ó 166, en el que Synflorix se administra conjuntamente o se administra de forma alternante con Infanrix-Hexa y una vacuna que contiene conjugado MenC.

168. El procedimiento de la reivindicación 165 ó 166, en el que Synflorix se administra conjuntamente o se administra de forma alternante con Infanrix-Penta y una vacuna que contiene conjugado Hib-MenC.

169. El procedimiento de la reivindicación 165 ó 166, en el que Synflorix se administra conjuntamente o se administra de forma alternante con una vacuna que contiene Infanrix Hexa-MenC.

170. Un procedimiento de inmunizar contra enfermedades provocadas por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de la hepatitis B, *Haemophilus influenzae* de tipo b, *Streptococcus pneumonia* y *Neisseria meningitidis* usando el kit o vacuna combinada de cualquiera de las reivindicaciones 1-139, en el que

a) cada antígeno del kit o vacuna combinada se administra 2-3 veces en un calendario de inmunización primaria;

b) se reduce la dosis de Pa o el número de componentes de Pa.

171. El kit, la vacuna combinada o el procedimiento de las reivindicaciones 1-170, en el que CRM es CRM-197.

172. Un kit de vacunas para la administración conjunta que comprende dos o más envases, en el que

el primer envase comprende

a) Hib que comprende PRP conjugado con TT

b) opcionalmente DTP

c) opcionalmente uno o más antígenos adicionales

el segundo envase comprende

d) una vacuna que comprende uno o más sacáridos bacterianos conjugados con proteína, uno o más de los cuales está(n) conjugado(s) con TT

e) opcionalmente uno o más antígenos adicionales

y, opcionalmente, un tercer envase comprende

f) una vacuna que comprende TT

en la que la cantidad total de TT del kit no conjugado con Hib es de 31 µg a 55 µg, 35 µg a 50 µg o 40 µg a 45 µg.

173. Un kit de vacunas para la administración conjunta que comprende dos o más envases, en el que

el primer envase comprende

- a) Hib que comprende PRP conjugado con TT
- b) opcionalmente DTP
- c) opcionalmente uno o más antígenos adicionales

el segundo envase comprende

d) una vacuna que comprende uno o más sacáridos bacterianos conjugados con proteína uno o más de los cuales está(n) conjugado(s) con TT

e) opcionalmente uno o más antígenos adicionales

y, opcionalmente, un tercer envase comprende

f) una vacuna que comprende TT

en la que la cantidad total de TT del kit que no está en el primer envase es de 1 µg a 25 µg, 5 µg a 20 µg, o 10 µg a 15 µg.

174. El kit de la reivindicación 173 que es el kit de la reivindicación 172.

175. Un kit de vacunas para la administración conjunta que comprende dos o más envases, en el que

el primer envase comprende

- a) Hib que comprende PRP conjugado con TT
- b) opcionalmente DTP
- c) opcionalmente uno o más antígenos adicionales

el segundo envase comprende

d) una vacuna que comprende uno o más sacáridos bacterianos conjugados con proteína uno o más de los cuales está(n) conjugado(s) con TT

e) opcionalmente uno o más antígenos adicionales

y, opcionalmente, un tercer envase comprende

f) una vacuna que comprende TT

en la que la cantidad de TT presente en el primer envase, pero no conjugado con PRP en Hib es de 20 µg a 40 µg o 25 a 35 µg o aproximadamente o exactamente 30 µg.

176. El kit de la reivindicación 175 que es un kit de las reivindicaciones 172-174.

177. Un kit de vacunas para la administración conjunta que comprende dos o más envases, en el que

el primer envase comprende

a) Hib que comprende PRP conjugado con TT

b) opcionalmente DTP

c) opcionalmente uno o más antígenos adicionales

el segundo envase comprende

d) una vacuna que comprende uno o más sacáridos bacterianos conjugados con proteína uno o más de los cuales está(n) conjugado(s) con TT

e) opcionalmente uno o más antígenos adicionales

y, opcionalmente, un tercer envase comprende

f) una vacuna que comprende TT

en la que la cantidad de TT conjugado con PRP en Hib es de 10 μg a 40 μg , o 15 a 35 μg , 20 μg a 30 μg o aproximadamente o exactamente 25 μg .

178. El kit de la reivindicación 177 que es un kit de las reivindicaciones 172-176.

179. El kit de las reivindicaciones 172-178, en el que PRP en Hib está conjugado a través de un enlazador ADH a TT.

180. El kit de las reivindicaciones 172-176, en el que el número de sacáridos bacterianos conjugados con proteínas diferentes en el segundo envase que están conjugados con TT es 1, 2, 3 ó 4.

181. El kit de las reivindicaciones 172-180, en el que el primer envase comprende b) DTPa o DTPw.

182. El kit de las reivindicaciones 172-181, en el que el primer envase comprende c) IPV y/o HB.

183. El kit de las reivindicaciones 172-180, que comprende un tercer envase que comprende f) DTPa o DTPw.

184. El kit de la reivindicación 183, en el que el tercer envase además comprende IPV y/o HB.

185. El kit de las reivindicaciones 172-184, en el que el primer envase comprende c) sacárido capsular MenC conjugado con TT y/o sacárido capsular MenY conjugado con TT.

186. El kit de las reivindicaciones 172-184, en el que el tercer envase comprende f) sacárido capsular MenC conjugado con TT y/o sacárido capsular MenY conjugado con TT.

187. El kit de las reivindicaciones 172-186, en el que el segundo envase comprende d) una vacuna neumocócica que comprende 9, 10, 11, 12, 13, 14 ó 15 o más sacáridos capsulares neumocócicos diferentes conjugados con transportadores proteínicos.

188. El kit de la reivindicación 187, en el que el segundo envase comprende d) sacárido capsular de serotipo 18C conjugado con TT.

189. El kit de las reivindicaciones 172-184, en el que el segundo envase comprende d) sacárido capsular MenC conjugado con TT y/o sacárido capsular MenY conjugado con TT.

190. El kit de las reivindicaciones 172-189 que es un kit tal como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 1-109.

191. Un procedimiento de disminuir la interferencia inespecífica en una vacuna que comprende un antígeno sensible que se administra en un calendario de inmunización primaria que se provoca por la administración de Pa al nacer, que comprende una o más de las siguientes etapas

- h) reducir la dosis de Pa al nacer o el número de componentes de Pa;
- a) incluir IPV en la vacuna que comprende el antígeno sensible;
- b) incluir Pw en la vacuna que comprende el antígeno sensible;
- c) disminuir la dosis de DT en la vacuna que comprende el antígeno sensible;
- d) aumentar la dosis del antígeno sensible;
- e) si CRM está presente, disminuir la cantidad de CRM y/o el número de conjugados de sacáridos en CRM;
- f) si Hib es el antígeno sensible, administrar Hib de forma separada de una vacuna combinada que comprende DTPa;
- g) si HB es el antígeno sensible, administrar HB de forma separada de una vacuna combinada que comprende DTPa;
- h) administrar Pa-HB al nacer para reducir la interferencia inmunitaria con HB.

192. El procedimiento de la reivindicación 191, en el que el antígeno sensible es Hib, HB y/o sacárido capsular neumocócico PS6B conjugado con una proteína transportadora.

193. El procedimiento de la reivindicación 191, en el que el antígeno sensible es Hib y comprende PRP conjugado con TT, en el que el procedimiento de disminuir la interferencia inespecífica comprende la etapa adicional de incluir TT adicional en la vacuna.

194. El procedimiento de la reivindicación 193, en el que el TT adicional se proporciona en un envase distinto.

195. El procedimiento de la reivindicación 193 ó 194, en el que el TT adicional está conjugado con no más de otros tres sacáridos.

196. Un procedimiento de administrar Pa al nacer y Hib en un calendario de inmunización primaria a un paciente en el que:

- Pa se administra al nacer; y
- Hib en el calendario de inmunización primaria se administra en una vacuna que no comprende DTPa.

197. El procedimiento de la reivindicación 196, en el que Hib se administra combinado con conjugados de sacáridos capsulares MenC y/o MenY.

198. Un procedimiento de administrar Pa al nacer y HB en un calendario de inmunización primaria a un paciente en el que:

- Pa se administra al nacer; y

- HB en el calendario de inmunización primaria se administra en una vacuna que no comprende DTPa.

199. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 191-198, en el que PT (o derivado de PT) está presente en Pa al nacer y está a una dosis que no supera 10 µg, 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 µg por dosis de 0,5 ml.

200. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 191-199, en el que está presente FHA en Pa al nacer y está a una dosis que no supera 10 µg, 1-9, 1,5-8, 2-6, 2,5-5 µg por dosis de 0,5 ml.

201. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 191-200, en el que está presente PRN en Pa al nacer y está a una dosis que no supera 6 µg, 0,5-6, 0,8-5, 1-4, 2-3 µg por dosis de 0,5 ml.

202. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 191-201, en el que PT está presente en Pa al nacer a una dosis de aproximadamente 2,5 µg, FHA está presente a una dosis de aproximadamente 2,5 µg y PRN está presente a una dosis de aproximadamente 0,8 µg por dosis de 0,5 ml.

203. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 191-201, en el que está presente PT en Pa al nacer a una dosis de aproximadamente 5 µg, está presente FHA a una dosis de

aproximadamente 5 μg y está presente PRN a una dosis de aproximadamente 2,5 μg por dosis de 0,5 ml.

204. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 191-203, en el que el PT en Pa al nacer es recombinante.

205. El procedimiento de las reivindicaciones 191-204, en el que la Pa al nacer comprende PT.

206. El procedimiento de las reivindicaciones 191-205, en el que la Pa al nacer comprende FHA.

207. El procedimiento de las reivindicaciones 191-206, en el que la Pa al nacer comprende PRN.

208. El procedimiento de las reivindicaciones 191-207, en el que la Pa al nacer no comprende PT.

209. El procedimiento de las reivindicaciones 191-208, en el que la Pa al nacer no comprende FHA.

210. El procedimiento de las reivindicaciones 1-19, en el que la Pa al nacer no comprende PRN.

Figura 2

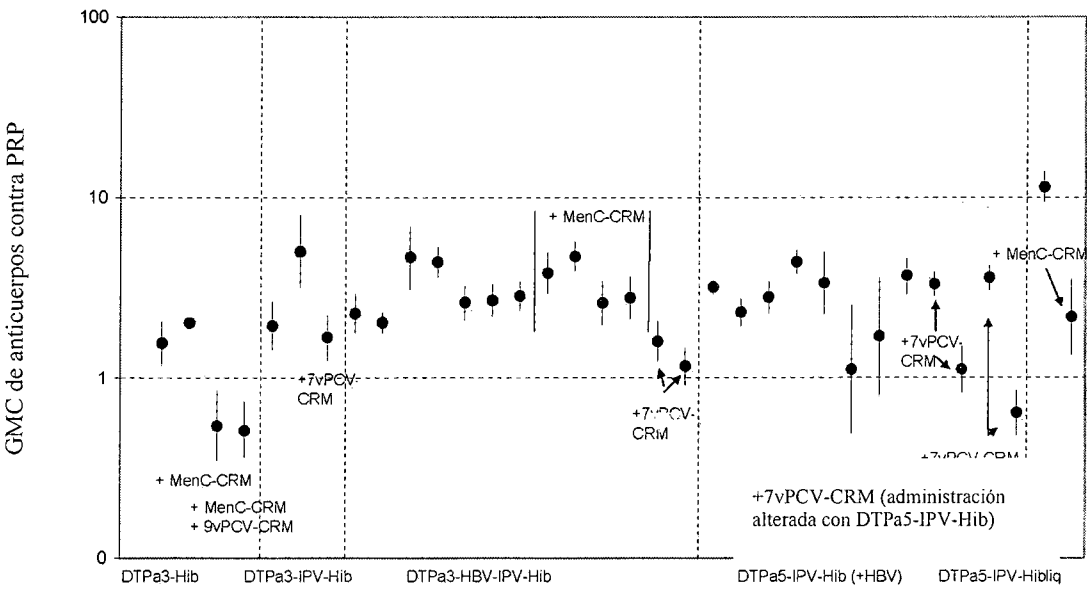
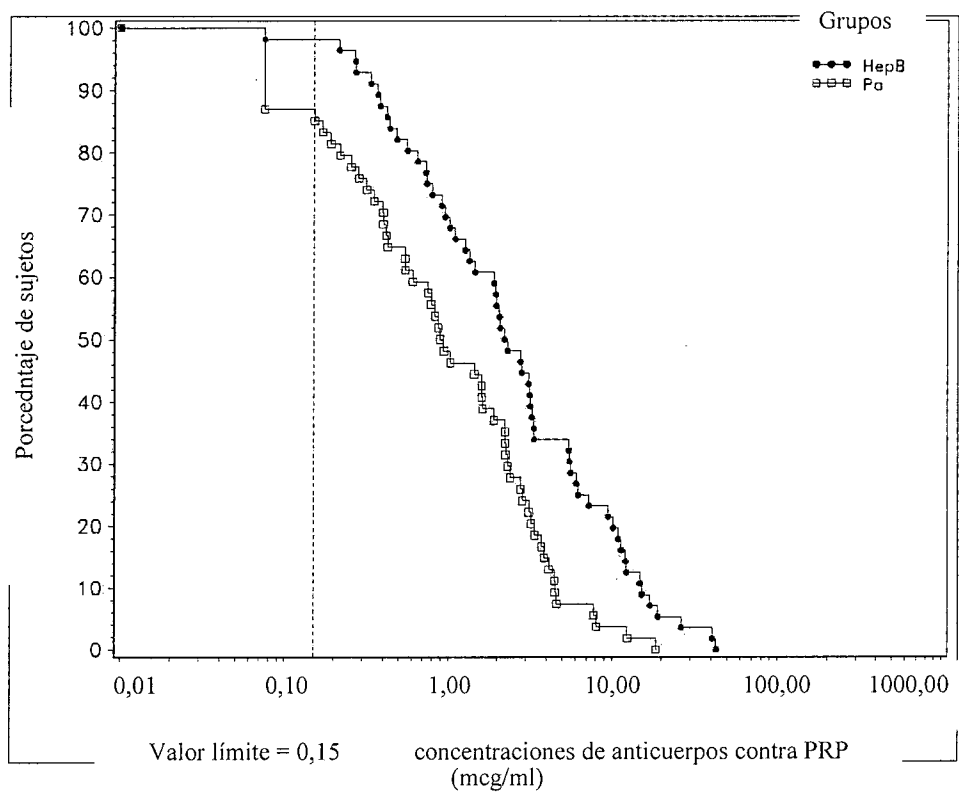


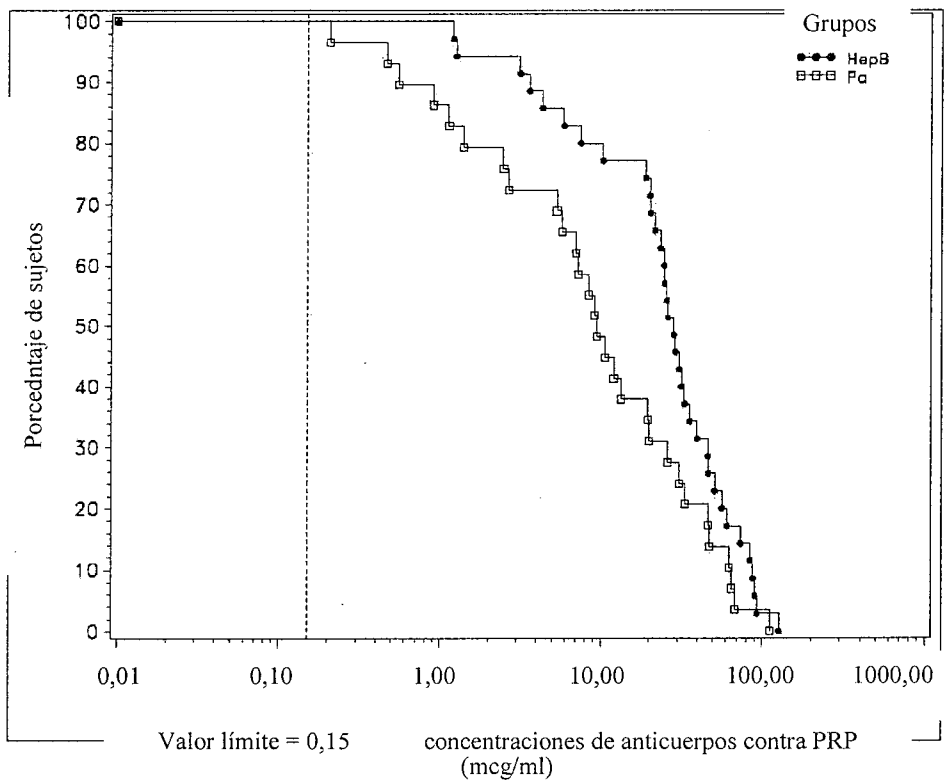
Figura 3 Curvas acumulativas inversas para las concentraciones de anticuerpos contra PRP un mes después de la tercera dosis de la vacuna Infanrix hexa (cohorte ATP para la capacidad inmunógena)



Grupo de HepB al nacer: recibió la vacuna de la Hepatitis B al nacer e Infanrix hexa™ a los 2, 4, 6 meses de edad

Grupo de Pa al nacer: recibió vacuna de Pa acelular al nacer e Infanrix hexa™ a los 2, 4, 6 meses de edad

Figura 4 Curvas acumulativas inversas para las concentraciones de anticuerpos contra PRP un mes después de la dosis de recuerdo de la vacuna Infanrix hexa (cohorte ATP para la capacidad inmunógena)



REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

PATENTE DE INVENCION [X]

MODELO DE UTILIDAD []

- ♦ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [X]
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [X]
- ♦ Descripción de la invención [X] 26
- ♦ Dibujos de ser estos pertinentes [] 27
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas [X] 2.

COMPLETA [X]

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ♦ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ♦ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

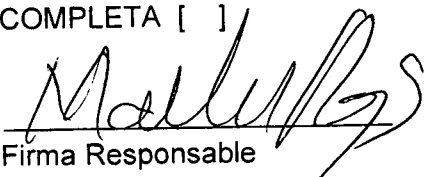
INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ♦ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ♦ Representación gráfica del esquema trazado []
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []


Firma Responsable

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Fecha_



No. 09-135810- -00000-0000

Fecha: 2009-11-27 17:18:59 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 226

raera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia



Bogotá,
2020

Doctor(a)
LLOREDA RICAURTE ALICIA
Apoderado(a) y/o Representante de
GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICAL S.A.

REFERENCIA	Radicación No.	09 135810
	Solicitud internacional	PCT/EP2008/055383
	Fecha inicio fase nacional	02/12/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. El solicitante debe presentar un nuevo título que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el título relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular única 5.2.9)

2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.

Continúa en la página siguiente...



Radicación No.: 9 135810


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha _____.
adpall

Al contestar favor indique el número
de radicación consignado en el rótulo

Sede Centro: Carrera 13 No. 27-00 pisos 2, 5, 7 y 10 PBX: 5870000
Sede CAN: Av. Carrera 50 No. 26 - 55 int.2. Tel 5880070
Call Center 6513240. Línea 01800-910165
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co
Bogotá D.C. Colombia



Bogotá,
2020

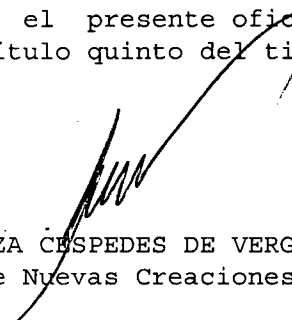
Doctor(a)
LLOREDA RICAURTE ALICIA
Apoderado(a) y/o Representante de
GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICAL S.A.

REFERENCIA	Radicación No.	9 135810
	Solicitud internacional	PCT/EP2008/055383
	Fecha inicio fase nacional	02/12/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	14387

Teniendo en cuenta que el capítulo reivindicatorio presentado excede de quince reivindicaciones, es necesario que cancele la tasa establecida por cada reivindicación adicional presentada, de conformidad con lo dispuesto en la resolución de tasas vigente para la fecha de presentación de la solicitud, so pena de que no sean tenidas en cuenta dentro del presente trámite administrativo.

En consecuencia, con fundamento en lo previsto por el artículo 12 del Código Contencioso Administrativo, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio atienda el requerimiento aquí señalado. Lo anterior, con el alcance que para tal efecto establece el artículo 13 de la misma codificación, respecto de las reivindicaciones adicionales.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 1.1 DIC. 2009
adpall