



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Organización CSA Ltda
Organización CSA Ltda

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

07-136724

21. EXPEDIENTE N° _____

54. TÍTULO "COMPOSICION INMUNOGENICA" _____

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 39/095; A61P 31/04 _____

71. SOLICITANTE GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. _____

DOMICILIO RIXENSART, BELGICA _____

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA LLOREDA RICAURTE _____

T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C. 27 DIC 2007 _____

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-136724- -00000-0000

Fecha: 2007-12-27 16:17:11
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACIONI
Eve: 379 FASENACIONALI
Folios: 134

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

27 ene 2008

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

IDENTIFICACIÓN

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: BIEMANS, Ralph, Leon; BOUTRIAU, Dominique; CAPIAU, Carine;
DENOEL, Philippe; DUVIVIER, Pierre y POOLMAN, Jan.

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

Nacionalidad o Domicilio: Bélgica.

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/006188

Fecha: 23/06/06

Publicación Internacional No. WO 2007/000314 A3

Fecha: 04/01/07

⑥

Título (54)

"COMPOSICIÓN INMUNOGÉNICA"

Weyo-Hute vs folio 149

⑦

Clasificación Internacional (51) A61K 39/095; A61P 31/04

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

GB

27/06/05

0513071.1

GB

27/06/05

0513069.5

GB

28/07/05

0515556.9

GB

28/11/05

0524204.5

GB

21/12/05

0526040.1

GB

21/12/05

0526041.9

⑨

Comprobante de Pago No. 07-100,734

Fecha: 11 de Diciembre de 2007

10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredite 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 reporte preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☒ Traducción del reporte preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ 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 con su traducción, publicación con su traducción y opinión escrita de la autoridad de búsqueda internacional con su traducción.

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



No. 07-136724- -00000-0000

Fecha: 2007-12-27 16:17:11 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 134

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 100,734
FECHA : DICIEMBRE 11 DE 2007

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	72074916	11/12/2007	5,225,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
1		TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	482,000.00
		TOTAL :	\$ 482,000.00

SON: CUATROCIENTOS OCHENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

TABLE 1. Summary of the data used in the analysis.

TABLE 1. (continued)

TABLE 1. (continued)

TABLE 1. (continued)

TABLE 1. (continued)

TABLE 1. (continued)

TABLE 1. (continued)

TABLE 1. (continued)

TABLE 1. (continued)

TABLE 1. (continued)

TABLE 1. (continued)

TABLE 1. (continued)

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

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

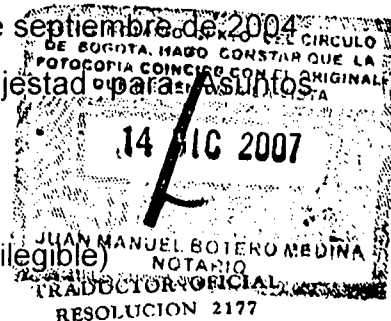
(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

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)



ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 SET 10 A 10:47

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

ues
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

COMO NOTARIO SEXTO
DE BOGOTÁ, MAGD. CDA,
FOTOCOPIA CORRESPONDE CON EL ORIGINAL
QUE HE TENIDO A LA VISTA
14 DIC 2007
JUAN MANUEL BOTERO MEDINA
NOTARIO

Sello de la Oficina de Asuntos
Exteriores y del Commonwealth

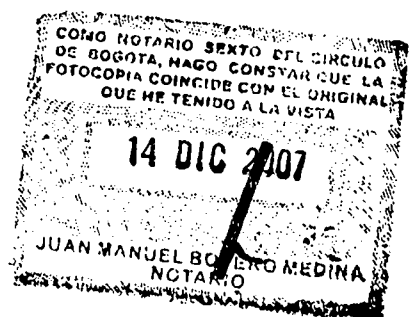
W. Glass
Por el Secretario de Estado

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 auténtica. 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.

TRADUCTOR OFICIAL
RESOLUCION 2177

Anita Escobar de Tamayo
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO



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:

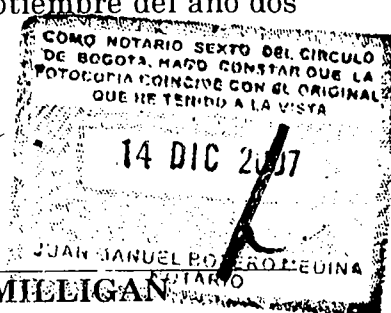
QUE es auténtica la firma suscrita al pie del adjunto Poder, por ser del puño y letra del Señor Don **MARCUS JONATHAN WILLIAM DALTON**, cuya identidad me consta, Apoderado de la Sociedad denominada **"GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A."** (anteriormente denominada **"Smithkline Beecham Biologicals s.a."**), 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.

Handwritten signature



JAMES KERR MILLIGAN
Notario Público de Londres, Inglaterra



APOSTILLE

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

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 Keer 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

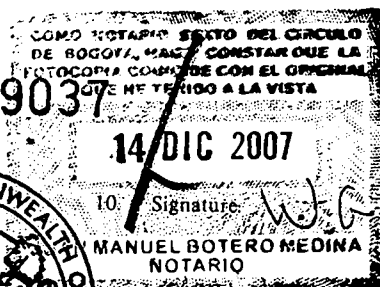
Certified/Attesté

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
MANUEL BOTERO MEDINA
NOTARIO

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 creyeran 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 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.

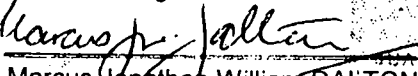
domiciled at **rue de l'Institut 89,
B-1330 Rixensart,
Belgium**

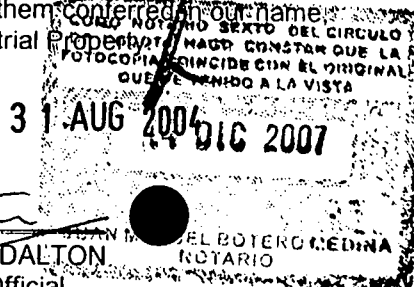
hereby appoint, ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial 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.

Given and signed this


Marcus Jonathan William DALTON
Attorney and Authorised Official



NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE

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 periodo 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 tá comprendido dentro del de la sociedad.

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

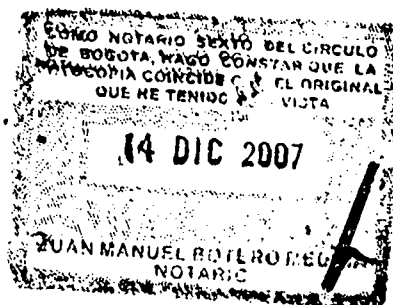
On this day of , 200 , personally came to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument, who being by me duly sworn did depose and say that he is the

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 , under date of ,

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.



 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: A61K 39/095; A61P 31/04	
(22) Fecha de solicitud: 27-12-07		(71) Solicitante(s): GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	0513071.1	27-06-05	GB
	0513069.5	27-06-05	GB
	0515556.9	28-07-05	GB
	0524204.5	28-11-05	GB
	0526040.1	21-12-05	GB
	0526041.9	21-12-05	GB
		(72) Inventor(es): BIEMANS, Ralph, Leon; BOUTRIAU, Dominique; CAPIAU, Carine; DENOEL, Philippe; DUVIVIER, Pierre y POOLMAN, Jan.	
		(74) Apoderado: ALICIA LLORED A RICAURTE	
(85)	Fecha limite inicio fase nacional: 27-01-08		(87) Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 04-01-07
	Fecha de presentación de la solicitud: 23-06-06		N° publicación: WO 2007/000314 A3
	No. de solicitud: PCT/EP2006/006188		
(54) Titulo: COMPOSICIÓN INMUNOGÉNICA			

Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 1.-

Una composición inmunogénica que comprende polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno de los serogrupos A, C, W135 e Y conjugados con una proteína vehiculo para producir un conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis*, en la que el tamaño medio de cada polisacárido de *N. meningitidis* es superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa o 130 kDa.

TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES
PCT
REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

(PCT Artículo 18 y Reglas 43 y 44)

Registro de referencia del solicitante o agente CLJ/VB61472	PARA FUTURAS ACCIONES	ver Forma PCT/ISA/220 así como, donde aplique, el ítem 5 a continuación.
Solicitud internacional No. PCT/EP2006/006188	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 23/06/2006	Fecha de Prioridad (Primera) (día/mes/año) 27/06/2005
Solicitante GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.		

Este reporte de búsqueda internacional ha sido preparado por esta Autoridad de Búsqueda Internacional y es transmitido al solicitante según el Artículo 18. Una copia será transmitida a la Oficina Internacional.

Este reporte de búsqueda internacional consta de un total de 5 hojas.

☒ También está acompañado de una copia de cada documento técnico anterior citado en este reporte.

1. Bases del reporte

a. Respecto al lenguaje, la búsqueda internacional se llevó a cabo con base en:

☒ la solicitud internacional en el lenguaje en el cual se presentó

☐ una traducción de la solicitud internacional en _____, la cual es el lenguaje de una traducción suministrada para los propósitos de búsqueda internacional (Reglas 12.3(a) y 23.1(b))

b. ☐ Respecto a una secuencia de ácido nucleótido y/o amino revelado en la solicitud internacional, ver Casilla No. I.

2. ☒ Ciertas reivindicaciones no pudieron localizarse (Ver Casilla No. II)

3. ☐ Falta unidad de invención (ver Casilla No. III)

4. Respecto al título,

☒ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante.

☐ Esta Autoridad ha establecido que el texto se lea así:

5. Respecto al resumen,

☒ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante.

☐ Esta Autoridad ha establecido el texto de acuerdo con la Regla 38.2(b), según aparece en la Casilla No. IV. El solicitante puede, un mes después de la fecha de haber enviado por correo este reporte de búsqueda internacional, presentar comentarios a esta Autoridad.

6. Respecto a los dibujos,

a. La figura de los dibujos que se publicará con el resumen es la Figura No. _____

☐ como lo sugirió el solicitante.

☐ como lo seleccionó esta Autoridad, porque el solicitante no sugirió una figura.

☐ como lo seleccionó esta Autoridad, porque esta figura caracteriza mejor a la invención.

b. ☒ ninguna de las figuras es para ser publicada con el resumen.

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/006188

Casilla II Observaciones donde ciertas reivindicaciones fueron inescrutables (Continuación del Ítem 2 de la primera hoja)

Este Reporte de Búsqueda Internacional no ha sido establecido respecto a ciertas reivindicaciones bajo el Artículo 17(2)(a) por las siguientes razones:

1. ☒ Reivindicaciones Nos.:

porque se relacionan con un asunto que no es necesario que esta Autoridad busque, a saber:
Aunque la reivindicación 66 está dirigida a un método de tratamiento del cuerpo humano, la búsqueda ha sido llevada a cabo y basada en los efectos alegados de la composición.

2. ☐ Reivindicaciones Nos.:
porque se relacionan con partes de la Solicitud Internacional que no cumplen con los requisitos prescritos hasta tal grado que no se puede llevar a cabo una búsqueda internacional significativa, específicamente:

3. ☐ Reivindicaciones Nos.:
porque son reivindicaciones dependientes y no están diseñadas de acuerdo con la segunda y tercera oración de la Regla 6.4(a).

Casilla III Observaciones donde falta unidad de invención (Continuación del Ítem 3 de la primera hoja)

Esta Autoridad de Búsqueda Internacional encontró invenciones múltiples en esta solicitud internacional, así:

1. ☐ Puesto que todos los derechos de búsqueda adicionales requeridos fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre todas las reivindicaciones investigables.
2. ☐ Puesto que todas las reivindicaciones investigables pudieron investigarse sin esfuerzo que justifique derechos adicionales, esta Autoridad no solicitó pago de derechos adicionales.
3. ☐ Puesto que sólo algunos de los derechos de búsqueda adicionales fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre únicamente aquellas reivindicaciones para las cuales se pagaron derechos, específicamente las reivindicaciones Nos.:
4. ☐ El solicitante no pagó oportunamente los derechos de búsqueda adicionales requeridos. Por consiguiente, este informe de búsqueda internacional se restringe a la primera invención mencionada en las reivindicaciones; está cubierto por las reivindicaciones Nos.:

Comentario sobre Protesta ☐ Los derechos de búsqueda adicionales estuvieron acompañados por la protesta del solicitante.

☐ El pago de los derechos de búsqueda adicionales no estuvo acompañado por una protesta.

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/006188

A. CLASIFICACION DE MATERIA OBJETO

INV. A61K39/095 A61K39/102 A61K39/116 A61P31/04

Según la Clasificación de Patente Internacional (IPC) o según la clasificación nacional y la IPC

B. CAMPOS BUSCADOS

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de símbolos de clasificación)

A61K

Documentación buscada fuera de documentación mínima hasta donde dichos documentos se incluyan en los campos buscados

Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, donde sea práctico, buscar términos usados)
EPO-Internacional, WPI Dato, BIOSIS

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
X	WO 2004/103400 A (AVENTIS PASTEUR INC [US]; RYALL ROBERT P [US]) 2 de Diciembre de 2004 (2004-12-02) citado en la solicitud página 6, línea 11 – página 7, línea 21 página 9, línea 4 – página 10, línea 2 reivindicaciones; ejemplos	1-68
A	WO 03/080678 A (CHIRON SRL [IT]; COSTANTINO PAOLO [IT]; BERTI FRANCESCO [IT]; NORELLI) 2 de Octubre de 2003 (2003-10-02) página 1, línea 4 – línea 26 página 11, línea 12 – línea 29 página 12, línea 15 – línea 20 página 14, línea 17 – línea 27 página 14, línea 32 – página 15, línea 13 página 26, línea 6 – línea 9 reivindicaciones; ejemplos	1-68

☒ En el recuadro C se enumeran más documentos.	☒ En el anexo se enumeran miembros de la familia de patentes.
° Categorías especiales de documentos citados: 'A' documento que define el estado general de la técnica el cual no se considera de relevancia particular 'E' documento anterior pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional 'L' documento que puede arrojar dudas sobre reivindicaciones de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra citación u otra razón especial (según se especifica) 'O' documento que se refiere a una revelación oral, uso, exhibición u otros medios 'P' documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada	'T' documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud pero citado para entender el principio o teoría que sustenta la invención 'X' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se toma solo 'Y' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o más documentos, siendo dicha combinación obvia para una persona experta en la técnica '&' documento miembro de la misma familia de patentes
Fecha de la terminación real de la búsqueda internacional 23 de Marzo de 2007	Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional 05/04/2007
Nombre y dirección de correo de la ISA/ Oficina de Patentes Europea, P. B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Funcionario autorizado Rankin, Robert

15

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
 PCT/EP2006/006188

C. (Continuación) DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
A	WO 03/007985 A (CHIRON SPA [IT]; COSTANTINO PAOLO [IT] CHIRON SRL [IT]; COSTANTINO PAO) 30 de Enero de 2003 (2003-01-30) página 1, línea 29 - línea 32 página 4, línea 12 - página 6, línea 14 página 8, línea 1 - línea 32 página 15, línea 10 - línea 18 reivindicaciones; ejemplos -----	1-68

16

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información sobre miembros de familia de patentes

Solicitud Internacional No.

PCT/EP2006/006188

Documento de patente citado en el reporte de búsqueda		Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
WO 2004103400	A	02-12-2004	AU 2004240558 A1	02-12-2004
			BR PI0410341 A	30-05-2006
			CA 2524860 A1	02-12-2004
			CN 1852733 A	25-10-2006
			EP 1624888 A2	15-02-2006
			JP 2006528936 T	28-12-2006
WO 03080678	A	02-10-2003	AU 2003216633 A1	08-10-2003
			BR 0308768 A	15-02-2005
			CA 2480389 A1	02-10-2003
			EP 1490409 A1	29-12-2004
			JP 2005526153 T	02-09-2005
			MX PA04009339 A	25-01-2005
			NZ 535968 A	31-08-2006
WO 03007985	A	30-01-2003	AT 322287 T	15-04-2006
			BR 0210590 A	09-11-2004
			CA 2450203 A1	30-01-2003
			CN 1518456 A	04-08-2004
			DE 60210456 T2	16-11-2006
			DK 1401489 T3	03-07-2006
			EP 1401489 A2	31-03-2004
			ES 2261705 T3	16-11-2006
			JP 2004536859 T	09-12-2004
			MX PA03011462 A	19-04-2005
			NZ 529881 A	31-03-2006
			NZ 544332 A	27-10-2006
			PT 1401489 T	31-08-2006
			US 2005106181 A1	19-05-2005

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference CLJ/VB61472	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP2006/006188	International filing date (day/month/year) 23/06/2006	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 27/06/2005
Applicant GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 5 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out 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))

b. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
b. ☒ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2006/006188

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claim 66 is directed to a method of treatment of the human body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2006/006188

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/095 A61K39/102 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		
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, WPI Data, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/103400 A (AVENTIS PASTEUR INC [US]; RYALL ROBERT P [US]) 2 December 2004 (2004-12-02) cited in the application page 6, line 11 - page 7, line 21 page 9, line 4 - page 10, line 2 claims; examples -----	1-68
A	WO 03/080678 A (CHIRON SRL [IT]; COSTANTINO PAOLO [IT]; BERTI FRANCESCO [IT]; NORELLI) 2 October 2003 (2003-10-02) page 1, line 4 - line 26 page 11, line 12 - line 29 page 12, line 15 - line 20 page 14, line 17 - line 27 page 14, line 32 - page 15, line 13 page 26, line 6 - line 9 claims; examples ----- -/--	1-68
☒ 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 23 March 2007		Date of mailing of the international search report 05/04/2007
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 Rankin, Robert

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

page 1 of 2

20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/006188

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 03/007985 A (CHIRON SPA [IT]; COSTANTINO PAOLO [IT] CHIRON SRL [IT]; COSTANTINO PAO) 30 January 2003 (2003-01-30) page 1, line 29 - line 32 page 4, line 12 - page 6, line 14 page 8, line 1 - line 32 page 15, line 10 - line 18 claims; examples -----	1-68

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2006/006188

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004103400	A	02-12-2004	AU 2004240558 A1	02-12-2004
			BR PI0410341 A	30-05-2006
			CA 2524860 A1	02-12-2004
			CN 1852733 A	25-10-2006
			EP 1624888 A2	15-02-2006
			JP 2006528936 T	28-12-2006

WO 03080678	A	02-10-2003	AU 2003216633 A1	08-10-2003
			BR 0308768 A	15-02-2005
			CA 2480389 A1	02-10-2003
			EP 1490409 A1	29-12-2004
			JP 2005526153 T	02-09-2005
			MX PA04009339 A	25-01-2005
			NZ 535968 A	31-08-2006

WO 03007985	A	30-01-2003	AT 322287 T	15-04-2006
			BR 0210590 A	09-11-2004
			CA 2450203 A1	30-01-2003
			CN 1518456 A	04-08-2004
			DE 60210456 T2	16-11-2006
			DK 1401489 T3	03-07-2006
			EP 1401489 A2	31-03-2004
			ES 2261705 T3	16-11-2006
			JP 2004536859 T	09-12-2004
			MX PA03011462 A	19-04-2005
			NZ 529881 A	31-03-2006
			NZ 544332 A	27-10-2006
			PT 1401489 T	31-08-2006
			US 2005106181 A1	19-05-2005

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional
4 de Enero de 2007 (04.01.2007)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2007/000314 A3

(51) Clasificación Internacional de Patentes:

A61K 39/095 (2006.01) **A61K 39/116** (2006.01)
A61K 39/102 (2006.01) **A61P 31/04** (2006.01)

(74) Agente: **LUBIENSKI, Michael, John**; GlaxoSmithKline,
Corporate Intellectual Property (CN925.1), 980 Great West
Road, Brentford Middlesex TW8 9GS (GB).

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/EP2006/006188

(22) Fecha de Registro Internacional:
23 de Junio de 2006 (23.06.2006)

(25) Idioma de registro: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Información de Prioridad:

0513071.1 27 de Junio de 2005 (27.06.2005) GB
0513069.5 27 de Junio de 2005 (27.06.2005) GB
0515556.9 28 de Julio de 2005 (28.07.2005) GB
0524204.5 28 de Noviembre de 2005 (28.11.2005) GB
0526040.1 21 de Diciembre de 2005 (21.12.2005) GB
0526041.9 21 de Diciembre de 2005 (21.12.2005) GB

(81) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra manera, para cada tipo de protección nacional disponible): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra manera, para cada tipo de protección regional disponible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Solicitante (para todos los Estados designados excepto Estados Unidos de América): **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.** [BE/BE]; Rue De l'Institut 89, B-1300 Rixensart (BE).

Declaraciones según la Regla 4.17:

- en cuanto al derecho del solicitante de solicitar y obtener una patente (Regla 4.17(ii))
- en cuanto al derecho del solicitante de reivindicar la prioridad de la solicitud anterior (Regla 4.17(iii))
- de invención (Regla 4.17(iv))

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para Estados Unidos de América solamente): **BIEMANS, Ralph, Leon** [BE/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE). **BOUTRIAU, Dominique** [BE/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE). **CAPIAU, Carine** [BE/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE). **DENOEL, Philippe** [BE/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE). **DUVIVIER, Pierre** [BE/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE). **POOLMAN, Jan** [NL/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

Publicada:

- con reporte de búsqueda internacional
- antes de la expiración del límite de tiempo para modificar las reivindicaciones y ser republicada de nuevo en el caso de recibo de modificaciones

(88) Fecha de publicación del reporte de búsqueda internacional:

31 de Mayo de 2007

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, refiérase a "Las Notas Guías sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada emisión regular de la Gaceta PCT.

(54) Título: COMPOSICIÓN INMUNOGÉNICA

(57) Resumen: La presente solicitud describe una composición inmunogénica que comprende polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno de los serogrupos A, C, W135 e Y conjugados con una proteína vehículo para producir un conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis*, en el que el tamaño medio de cada polisacárido de *N. meningitidis* es superior a 50kDa.

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
4 January 2007 (04.01.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/000314 A3

(51) International Patent Classification:
A61K 39/095 (2006.01) *A61K 39/116* (2006.01)
A61K 39/102 (2006.01) *A61P 31/04* (2006.01)

(74) Agent: LUBIENSKI, Michael, John; GlaxoSmithKline,
Corporate Intellectual Property (CN925.1), 980 Great West
Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS (GB).

(21) International Application Number:
PCT/EP2006/006188

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP,
KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA,
NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(22) International Filing Date: 23 June 2006 (23.06.2006)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0513071.1 27 June 2005 (27.06.2005) GB
0513069.5 27 June 2005 (27.06.2005) GB
0515556.9 28 July 2005 (28.07.2005) GB
0524204.5 28 November 2005 (28.11.2005) GB
0526040.1 21 December 2005 (21.12.2005) GB
0526041.9 21 December 2005 (21.12.2005) GB

(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, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT,
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant (for all designated States except US): GLAXO-
SMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. [BE/BE]; rue re
L'institut 89, B-1300 Rixensart (BE).

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

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): BIEMANS, Ralph,
Leon [BE/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., rue
de L'institut 89, B-1330 Rixensart (BE). BOUTRIAU,
Dominique [BE/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a.,
rue de L'institut 89, B-1330 Rixensart (BE). CAPIAU,
Carine [BE/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., rue
de L'institut 89, B-1330 Rixensart (BE). DENOEL,
Philippe [BE/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., rue
de L'institut 89, B-1330 Rixensart (BE). DUVIVIER,
Pierre [BE/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., rue
de L'institut 89, B-1330 Rixensart (BE). POOLMAN,
Jan [NL/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., rue de
L'institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

(88) Date of publication of the international search report:
31 May 2007

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: IMMUNOGENIC COMPOSITION

(57) Abstract: The present application discloses an immunogenic composition comprising *N. meningitidis* capsular polysaccharides from at least one of serogroups A, C, W135 and Y conjugated to a carrier protein to produce a *N. meningitidis* capsular polysaccharide conjugate, wherein the average size of each *N. meningitidis* polysaccharide is above 50kDa.

WO 2007/000314 A3

TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES

De la
AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Para: ver forma PCT/ISA/220		PCT OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL (PCT Regla 43bis.1)																									
		Fecha de correo (día/mes/año) ver forma PCT/ISA/210 (segunda hoja)																									
Registro de referencia del solicitante o agente ver forma PCT/ISA/220		PARA FUTURAS ACCIONES Ver párrafo 2 a continuación																									
Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/006188	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 23.06.2006	Fecha de prioridad (día/mes/año) 27.06.2005																									
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC INV. A61K39/095 A61K39/102 A61K39/116 A61P31/04																											
Solicitante GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.																											
1. Esta opinión contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems: <table><tr><td>☒</td><td>Casilla No. I</td><td>Bases de la opinión</td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. II</td><td>Prioridad</td></tr><tr><td>☒</td><td>Casilla No. III</td><td>No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial</td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. IV</td><td>Falta de unidad de invención</td></tr><tr><td>☒</td><td>Casilla No. V</td><td>Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación</td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. VI</td><td>Ciertos documentos citados</td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. VII</td><td>Ciertos defectos en la solicitud internacional</td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. VIII</td><td>Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional</td></tr></table> 2. ACCIONES FUTURAS Si se hace una demanda para examen preliminar internacional, esta opinión generalmente será considerada como una opinión escrita de la Autoridad Examinadora Preliminar ("IPEA"). Sin embargo, esto no aplica cuando el solicitante escoge una Autoridad diferente a ésta para que sea la IPEA y la IPEA escogida le ha notificado a la Oficina Internacional de conformidad con la Regla 66.1bis(b) que no se considerarán las opiniones escritas de esta Autoridad de Búsqueda Internacional. Si esta opinión es, según se estipula anteriormente, considerada una opinión escrita de la IPEA, se invita al solicitante a presentar ante la IPEA una respuesta escrita junto, cuando sea apropiado, con modificaciones, antes de la fecha de expiración de tres meses desde la fecha de envío por correo de la Forma PCT/ISA/220 o antes de la fecha de expiración de 22 meses desde la fecha de prioridad, la que expire más tarde. Para opciones futuras, ver la Forma PCT/ISA/220. 3. Para detalles adicionales, ver las notas a la Forma PCT/ISA/220.				☒	Casilla No. I	Bases de la opinión	☐	Casilla No. II	Prioridad	☒	Casilla No. III	No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial	☐	Casilla No. IV	Falta de unidad de invención	☒	Casilla No. V	Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación	☐	Casilla No. VI	Ciertos documentos citados	☐	Casilla No. VII	Ciertos defectos en la solicitud internacional	☐	Casilla No. VIII	Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional
☒	Casilla No. I	Bases de la opinión																									
☐	Casilla No. II	Prioridad																									
☒	Casilla No. III	No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial																									
☐	Casilla No. IV	Falta de unidad de invención																									
☒	Casilla No. V	Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación																									
☐	Casilla No. VI	Ciertos documentos citados																									
☐	Casilla No. VII	Ciertos defectos en la solicitud internacional																									
☐	Casilla No. VIII	Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional																									
Nombre y dirección de correo de la ISA: Oficina Europea de Patentes D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465		Fecha de terminación de esta opinión ver forma PCT/ISA/210	Funcionario Autorizado Rankin, Robert Teléfono No. +49 89 2399-2659																								

Casilla No. I. Bases de la opinión

1. Respecto al idioma, esta opinión ha sido establecida con base en:
☒ la solicitud internacional en el idioma en el cual se presentó
☐ una traducción de la solicitud internacional en _____, el cual es el idioma de una traducción proporcionada para los propósitos de búsqueda internacional (Reglas 12.3(a) y 23.1(b)).
2. Respecto a cualquier nucleótido y/o secuencia aminoácida revelada en la solicitud internacional y necesaria para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido según:
 - a. tipo de material:
☐ un listado de secuencia
☐ tabla(s) relacionada con el listado de secuencia
 - b. formato de material:
☐ en formato escrito
☐ en formato legible por computador
 - c. tiempo de presentación/suministro:
☐ contenido en la solicitud internacional según se registró.
☐ registrada junto con la solicitud internacional en formato legible por computador.
☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad para la búsqueda..
3. ☐ Además, en el caso en que más de una versión o copia de un listado de secuencia y/o tabla relacionada con ello se haya registrado o proporcionado, las declaraciones requeridas de que la información en las copias subsiguientes o adicionales es idéntica a aquella en la solicitud según se presentó o no va más allá de la solicitud según se registró, según lo apropiado, fueron suministradas.
4. Comentarios adicionales:

Casilla No. III No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial

Las preguntas de si la invención reivindicada parece ser novedosa, comprender un nivel inventivo (ser no obvia) o ser aplicable industrialmente no se han examinado respecto a:

- ☐ toda la solicitud internacional
☒ reivindicaciones Nos. 66 (por razones de aplicabilidad industrial)

porque:

- ☒ dicha solicitud internacional, o dichas reivindicaciones Nos. 66 (por razones de aplicabilidad industrial) se refieren a la siguiente materia objeto la cual no requiere un examen preliminar internacional (*especificar*):

ver hoja separada

- ☐ la descripción, reivindicaciones o dibujos (*indicar elementos particulares abajo*) o dichas reivindicaciones Nos. son tan poco claras que no pudo formarse una opinión significativa (*especificar*):
- ☐ las reivindicaciones, o dichas reivindicaciones Nos. son sustentadas tan inadecuadamente por la descripción que no se podría formar una opinión significativa (*especificar*):
- ☐ no se ha establecido ningún reporte de búsqueda internacional para toda la solicitud o para dichas reivindicaciones Nos.
- ☐ no pudo establecerse una opinión significativa sin el listado de secuencia; el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no:
- ☐ suministró un listado de secuencias en papel para cumplir con el estándar para ello provisto en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y dicho listado no estuvo disponible para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta.
- ☐ suministró un listado de secuencias en formato electrónico para cumplir en el estándar para ello provisto en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas y tal listado no estuvo disponible para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta.
- ☐ pagó la tarifa de suministro tardío para el suministro de un listado de secuencia en respuesta a una invitación de acuerdo con las Reglas 13ter.1(a) o (b).
- ☐ no pudo establecerse una opinión significativa sin las tablas relacionadas con los listados de secuencias; el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no suministró dichas tablas en formato electrónico para cumplir con los requisitos técnicos para ello provistos en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas y dichas tablas no estuvieron disponibles para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta.
- ☐ las tablas que se relacionan con el listado de secuencias de aminoácidos y/o nucleótidos, si están solamente en formato electrónico, no cumplen con los requisitos técnicos para ello provistos en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.
- ☐ Ver Casilla Suplementaria para detalles adicionales

Casilla No. V Afirmación razonada bajo la Regla 43bis.1(a)(i) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1. Declaración

Novedad (N)	Si: Reivindicaciones <u>4, 19, 22-62, 64</u>
	No: Reivindicaciones <u>1-3, 5-18, 20, 21, 63, 65-68</u>
Nivel Inventivo (IS)	Si: Reivindicaciones
	No: Reivindicaciones <u>1-68</u>
Aplicabilidad Industrial (IA)	Si: Reivindicaciones <u>1-65, 67, 68</u>
	No: Reivindicaciones

2. Citaciones y explicaciones

ver hoja separada

Re Ítem III

No se establece opinión con respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial

La reivindicación 66 se relaciona con el objeto que esta Autoridad considera estar cubierto por las disposiciones de la Regla 67.1 (iv) PCT. Por consiguiente no se formulará ninguna opinión con respecto a la aplicabilidad industrial del objeto de esta reivindicación (Artículo 34(4)(a)(i) PCT)

Re Ítem V

Declaración motivada con respecto a la novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que soportan dicha declaración

Para llevar a cabo la evaluación de la presente reivindicación 66 acerca de si es industrialmente aplicable, no existe un criterio unificado dentro de los Estados Contratantes del PCT. La patentabilidad también puede depender de la formulación de las reivindicaciones. El EPO, por ejemplo, no reconoce como industrialmente aplicable el objeto de reivindicaciones para el uso de un compuesto en tratamiento médico, pero puede permitir, sin embargo, el uso de dicho compuesto para la fabricación de algún medicamento para un tratamiento médico nuevo.

Documentos Registrados

Se hace referencia a los siguientes documentos:

- D1: WO 2004/103400 A (AVENTIS PASTEUR INC [US]; RYALL ROBERT P [US]) 2 de Diciembre de 2004 (2004-12-02) registrado en la aplicación
D2: WO 03/080678 A (CHIRON SRL [IT]; COSTANTINO PAOLO [IT]; BERTI FRANCESCO [IT]; NORELLI) 2 de Octubre de 2003 (2003-10-02)

Artículo 33(2) PCT

El objeto de las reivindicaciones 1-3, 5-18, 20, 21, 63, 65-68 no cumple con los requisitos del Artículo 33(2) PCT.

El Documento D1 revela vacunas contra la *N. meningitidis*. Las preparaciones de la vacuna de esta revelación se basan en polisacáridos de los grupos *serum* A, C, W-135 o Y que se conjugan con una molécula de proteína portadora. La composición también puede abarcar dos o más polisacáridos capsulares conjugados con una o más proteínas portadoras. Los polisacáridos tienen un tamaño promedio de menos de 100,000 daltons. Entre los demás tamaños posibles de los polisacáridos, se mencionan los siguientes rangos (en daltons): 5,000 a 75,000 y 7,000 a 50,000 (en la página 6, renglón 11, hasta la página 7, renglón 21; página 9, renglón 4, hasta la página 10, renglón 2; ejemplos; reivindicaciones). A la luz del documento D1, las reivindicaciones 1-3, 5-18, 20, 21, 63, 65-68 de la presente solicitud no son novedosas (Artículo 33(2) PCT).

El objeto de las reivindicaciones 4, 19, 22-62 y 64 es por tanto novedoso, con respecto a la técnica anterior.

Artículo 33(3) PCT

El objeto de las reivindicaciones 4, 19, 22-62 y 64 no es inventivo con respecto a la técnica anterior (Artículo 33(3) PCT).

El objeto de las reivindicaciones 4, 19, y 64 no se consideran obvios puesto que las opciones contenidas en las mismas se considerarían como obvias para la persona calificada (Artículo 33(3) PCT).

El uso de una molécula de acople en la formación de un conjugado también podría ser obvio para la persona calificada (ver por ejemplo D2, página 14, renglones 17-27), como lo sería la incorporación de conjugados de *influenzae* H. y demás antígenos patógenos. Los coeficientes de proteína portadora a polisacáridos se consideran en D1. La persona calificada consideraría por lo tanto el objeto de las reivindicaciones 22-62 como obvio. Conforme a lo anterior, dichas reivindicaciones no son inventivas (Artículo 33(3) PCT).

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/EP2006/006188

International filing date (day/month/year)
23.06.2006

Priority date (day/month/year)
27.06.2005

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. A61K39/095 A61K39/102 A61K39/116 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

Rankin, Robert

Telephone No. +49 89 2399-2659



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2006/006188

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. 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.
3. ☐ 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.
4. Additional comments:

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of

- ☐ the entire international application
- ☒ claims Nos. 66 (for reasons of industrial applicability)

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 66 (for reasons of industrial applicability) relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

see separate sheet

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
- ☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
- ☐ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos.
- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:
- ☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
 - ☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
 - ☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b).
- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.
- ☐ See Supplemental Box for further details

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>4, 19, 22-62, 64</u>
	No: Claims	<u>1-3, 5-18, 20, 21, 63, 65-68</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-68</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-65, 67, 68</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

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

International application No.

PCT/EP2006/006188

Re Item III

Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

Claim 66 relates to subject matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject matter of this claim (Article 34(4)(a)(i) PCT)

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

For the assessment of the present claim 66 on the question whether it is industrially applicable, no unified criteria exist within the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as industrially applicable the subject matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Cited Documents

Reference is made to the following documents:

- D1: WO 2004/103400 A (AVENTIS PASTEUR INC [US]; RYALL ROBERT P [US]) 2 December 2004 (2004-12-02) cited in the application
D2: WO 03/080678 A (CHIRON SRL [IT]; COSTANTINO PAOLO [IT]; BERTI FRANCESCO [IT]; NORELLI) 2 October 2003 (2003-10-02)

Article 33(2) PCT

The subject matter of claims 1-3, 5-18, 20, 21, 63, 65-68 does not meet the requirements of Article 33(2) PCT.

Document D1 discloses vaccines against *N. meningitidis*. The vaccine preparations of this disclosure are based on polysaccharides from serogroups A, C, W-135 or Y which are conjugated to a protein carrier molecule. The composition may also comprise two or more capsular polysaccharides conjugated to one or more carrier proteins. The polysaccharides have an average size of less than 100,000 daltons. Amongst the other possible sizes of the polysaccharides, the following ranges (in daltons) are mentioned: 5,000 to 75,000 and

7,000 to 50,000 (cf page 6, line 11 to page 7, line 21; page 9, line 4 to page 10, line 2; examples; claims). In light of D1, claims 1-3, 5-18, 20, 21, 63, 65-68 of the present application are not novel (Article 33(2) PCT).

The subject matter of claims 4, 19, 22-62 and 64 is therefore novel with regard to the prior art.

Article 33(3) PCT

The subject matter of claims 4, 19, 22-62 and 64 is not inventive with regard to the prior art (Article 33(3) PCT).

The subject matter of claims 4, 19 and 64 are not considered obvious as the options contained therein would be considered as obvious to the skilled person (Article 33(3) PCT).

The use of a linker molecule in the formation of a conjugate would also be obvious to the skilled person (see for example D2, page 14, lines 17-27), as would the incorporation of conjugates of H. influenzae and other pathogen antigens. Ratios of carrier protein to polysaccharide are taught in D1. The skilled person would therefore view the subject matter of claims 22-62 as being obvious. Said claims are therefore not inventive (Article 33(3) PCT).

TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES
PCT
REPORTE PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD
(Capítulo II del Tratado de Cooperación de Patentes)

(PCT Artículo 36 y Regla 70)

Registro de referencia del solicitante o agente CLJ/VB61472	PARA FUTURAS ACCIONES Ver Forma PCT/IPEA/416																									
Solicitud internacional No. PCT/EP2006/006188	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 23.06.2006	Fecha de prioridad (día/mes/año) 27.06.2005																								
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC INV. A61K39/095																										
Solicitante GlaxoSmithKline Biologicals s.a.																										
1. Este reporte es el reporte de examen preliminar internacional, establecido por esta Autoridad Examinadora Preliminar Internacional bajo el Artículo 35 y transmitido al solicitante de conformidad con el Artículo 36. 2. Este REPORTE consta de un total de <u>6</u> hojas, incluyendo esta carátula. 3. Este reporte también es acompañado por ANEXOS, que comprenden: a. ☒ (enviado al solicitante y a la Oficina Internacional) un total de <u>7</u> hojas, como sigue: ☒ hojas de la descripción, reivindicaciones y/o dibujos los cuales han sido modificados y son la base de este reporte y/o hojas que contienen rectificaciones autorizadas por esta Autoridad (ver Regla 70.16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas). ☐ hojas que reemplazan hojas anteriores, pero las cuales esta Autoridad considera que contienen una modificación que va más allá de la revelación en la solicitud internacional como se presentó, como se indicó en el ítem 4 de la Casilla No. I y la Casilla Suplementaria. b. ☐ (enviado únicamente a la Oficina Internacional) un total de (indicar tipo y número de medio(s) electrónico(s)) _____, que contienen un listado de secuencias y/o tablas con ello, únicamente en una forma legible en computador, como se indicó en la Casilla Suplementaria Relacionada con el Listado de Secuencias (ver Sección 802 de las Instrucciones Administrativas).																										
4. Este reporte contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems: <table style="width: 100%; border: none;"><tr><td style="width: 10%;">☒</td><td style="width: 20%;">Casilla No. I</td><td>Bases del reporte</td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. II</td><td>Prioridad</td></tr><tr><td>☒</td><td>Casilla No. III</td><td>No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial</td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. IV</td><td>Falta de unidad de invención</td></tr><tr><td>☒</td><td>Casilla No. V</td><td>Afirmación razonada de conformidad con el Artículo 35(2) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación</td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. VI</td><td>Ciertos documentos citados</td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. VII</td><td>Ciertos defectos en la solicitud internacional</td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. VIII</td><td>Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional</td></tr></table>			☒	Casilla No. I	Bases del reporte	☐	Casilla No. II	Prioridad	☒	Casilla No. III	No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial	☐	Casilla No. IV	Falta de unidad de invención	☒	Casilla No. V	Afirmación razonada de conformidad con el Artículo 35(2) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación	☐	Casilla No. VI	Ciertos documentos citados	☐	Casilla No. VII	Ciertos defectos en la solicitud internacional	☐	Casilla No. VIII	Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional
☒	Casilla No. I	Bases del reporte																								
☐	Casilla No. II	Prioridad																								
☒	Casilla No. III	No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial																								
☐	Casilla No. IV	Falta de unidad de invención																								
☒	Casilla No. V	Afirmación razonada de conformidad con el Artículo 35(2) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación																								
☐	Casilla No. VI	Ciertos documentos citados																								
☐	Casilla No. VII	Ciertos defectos en la solicitud internacional																								
☐	Casilla No. VIII	Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional																								
Fecha de presentación de la demanda 2007-06-11	Fecha de terminación de este reporte 28.11.2007																									
Nombre y dirección de correo de la autoridad examinadora preliminar internacional: Oficina de Patentes Europea D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Funcionario autorizado Rankin, Robert Teléfono No. +49 89 2399-2659																									

37

Casilla No. I Bases del reporte

1. Respecto al idioma, este reporte está basado en

☒ la solicitud internacional en el idioma en el cual fue presentada

☐ una traducción de la solicitud internacional en _____, el cual es el idioma de una traducción
suministrada para los propósitos de:

☐ búsqueda internacional (según las Reglas 12.3(a) y 23.1(b))

☐ publicación de la solicitud internacional (según la Regla 12.4(a))

☐ examen preliminar internacional (según las Reglas 55.2(a) y/o 55.3(a))

2. Respecto a los elementos* de la solicitud internacional, este reporte se basó en *(hojas reemplazadas las cuales han sido suministradas a la Oficina receptora en respuesta a una invitación según Artículo 14, son referidas en este reporte como "originalmente presentadas" y no son anexadas a este reporte):*

Descripción, Páginas

1-37 como se presentaron originalmente

Reivindicaciones, Números

1-68 presentadas con el facsímile de 11.06.2007

Dibujos, Hojas

1/1 como se presentaron originalmente

☐ listado de secuencia y/o alguna tabla(s) - ver Casilla Suplementaria en Relación al Listado de Secuencia

3. ☐ Las modificaciones resultaron en la cancelación de:

☐ la descripción, páginas

☐ las reivindicaciones, Nos.

☐ los dibujos, hojas/figuras

☐ el listado de secuencia *(especificar):*

☐ cualquier tabla(s) relacionada al listado de secuencia *(especificar):*

4. ☐ Este reporte ha sido establecido como si (alguno de) los anexos modificados a este reporte y numerado antes no ha sido hecho, desde que ellos han sido considerados a través de la presentación original, como esta indicado en la Casilla Suplementaria (Regla 70.2(c)).

☐ la descripción, páginas

☐ las reivindicaciones, Nos.

☐ los dibujos, hojas/figuras

☐ el listado de secuencia *(especificar):*

☐ alguna tabla(s) relacionada al listado de secuencia *(especificar):*

* Si el ítem 4 aplica, algunas o todas de estas hojas pueden ser marcadas "reemplazadas".

Casilla No. III No-establecimiento de opinión respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial

1. Las preguntas como quiera que la invención reivindicada parezca ser novedosa, involucrar un nivel inventivo (para no ser obvio), o para ser aplicable industrialmente no se han examinado en relación con:

- ☐ toda la solicitud internacional,
☒ reivindicaciones Nos. 66 (por razones de aplicabilidad industrial)

porque:

- ☒ dicha solicitud internacional, o dichas reivindicaciones Nos. 66 (por razones de aplicabilidad industrial) se refieren a la siguiente materia objeto el cual no requiere examen preliminar internacional (*especificar*):

ver hoja separada

- ☐ la descripción, reivindicaciones o dibujos (*indican elementos particulares a continuación*) o dichas reivindicaciones Nos. son tan imprecisas que no pudo formarse una opinión significativa (*especificar*):
- ☐ las reivindicaciones o dichas reivindicaciones Nos. están sustentadas tan inadecuadamente por la descripción que no pudo formarse una opinión significativa (*especificar*).
- ☐ no se ha establecido un reporte de búsqueda internacional para dichas reivindicaciones Nos.
- ☐ no pudo establecerse una opinión significativa sin el listado de secuencia, el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no:
- ☐ suministró un listado de secuencias en papel para cumplir con el estándar para ello provisto en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y dicho listado no estuvo disponible para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta.
- ☐ suministró un listado de secuencias en formato electrónico para cumplir en el estándar para ello provisto en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas y tal listado no estuvo disponible para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta.
- ☐ pagó la tarifa de suministro tardío para el suministro de un listado de secuencia en respuesta a una invitación de acuerdo con las Reglas 13ter.1(a) o (b) y 13ter.2.
- ☐ no pudo establecerse una opinión significativa sin las tablas relacionadas con los listados de secuencias; el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no suministró dichas tablas en formato electrónico para cumplir con los requisitos técnicos para ello provistos en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas y dichas tablas no estuvieron disponibles para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta.
- ☐ las tablas que se relacionan con el listado de secuencias de aminoácidos y/o nucleótidos, si están solamente en formato electrónico, no cumplen con los requisitos técnicos para ello provistos en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.
- ☐ Ver hoja separada para detalles adicionales

Casilla No. V Afirmación razonada bajo el Artículo 35(2) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1. Afirmación

Novedad (N)	Si:	Reivindicaciones	<u>1-68</u>
	No:	Reivindicaciones	
Nivel Inventivo (IS)	Si:	Reivindicaciones	<u>1-68</u>
	No:	Reivindicaciones	
Aplicabilidad Industrial (IA)	Si:	Reivindicaciones	<u>1-65, 67, 68</u>
	No:	Reivindicaciones	

2. Citaciones y explicaciones (Regla 70.7):

ver hoja separada

Re Ítem III

No se establece opinión con respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial

La reivindicación 66 se relaciona con el objeto que esta Autoridad considera estar cubierto por las disposiciones de la Regla 67.1 (iv) PCT. Por consiguiente no se formulará ninguna opinión con respecto a la aplicabilidad industrial del objeto de esta reivindicación (Artículo 34(4)(a)(i) PCT).

Re Ítem V

Declaración motivada con respecto a la novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que soportan dicha declaración

Para llevar a cabo la evaluación de la presente reivindicación 66 acerca de si es industrialmente aplicable, no existe un criterio unificado dentro de los Estados Contratantes del PCT. La patentabilidad también puede depender de la formulación de las reivindicaciones. El EPO, por ejemplo, no reconoce como industrialmente aplicable el objeto de reivindicaciones para el uso de un compuesto en tratamiento médico, pero puede permitir, sin embargo, el uso de dicho compuesto para la fabricación de algún medicamento para un tratamiento médico nuevo.

Con respecto a las Enmiendas

El grupo de reivindicaciones enmendadas presentadas por fax de fecha 11.06.2007 cumplen con los requisitos del Artículo 34(2)(b) PCT.

Documentos Registrados

Se hace referencia a los siguientes documentos:

- D1: WO 2004/103400 A (AVENTIS PASTEUR INC [US]; RYALL ROBERT P [US]) 2 de Diciembre de 2004 (2004-12-02)
- D2: WO 03/080678 A (CHIRON SRL [IT]; COSTANTINO PAOLO [IT]; BERTI FRANCESCO [IT]; NORELLI) 2 de Octubre de 2003 (2003-10-02)

Artículo 33(2) PCT

El objeto de las reivindicaciones 1-68 se considera novedoso a la luz de la técnica anterior (Artículo 33(2) PCT).

Artículo 33(3) PCT

Las reivindicaciones 1-68 se consideran inventivas (Artículo 33(3) PCT).

La técnica anterior más cercana se puede considerar como D1, la cual revela vacunas contra la *N. meningitidis* basadas en polisacáridos de los grupos *serum* A, C, W-135 o Y.

La diferencia entre la Reivindicación 1 y D1 es que D1 enseña que los tamaños preferidos de los polisacáridos son entre 12 y 55 Kda, mientras que en la reivindicación 1, los polisacáridos tienen una mas promedio mayor a 50 Kda con el componente MenC con una masa superior a 75 Kda.

El efecto de la diferencia es que las respuestas inmunes son más fuertes en vacunas con las características de la reivindicación 1.

El problema que se debe resolver se considerará por lo tanto, el suministro de una vacuna mejorada contra la *N. meningitidis*.

El objeto de la reivindicación 1 resuelve este problema (ver ejemplos 3 y 6, así como la Gráfica 1 de la revelación) y se considera inventivo puesto que la persona calificada no hubiera logrado la solución a través de la enseñanza de D1, lo cual no indica que incremento en el tamaño de los polisacáridos arroje como resultado mejores vacunas. Sin embargo, D1 enseña lo contrario y establece que es deseable reducir su tamaño hasta entre 12 y 25 Kda por depolimerización. Así mismo, D2 no sugiere utilizar polisacáridos de mayor tamaño y enseña que los polisacáridos MENA se deben hidrolizar y aquellos inferiores a 30 Kda, se deben utilizar en la preparación de la vacuna. Sin embargo, la persona calificada, conforme a la técnica anterior, no hubiera llegado al objeto de la reivindicación 1 para resolver el problema establecido. Puesto que los objetos de las reivindicaciones 2-68 son dependientes entre sí, o hacen referencia a la reivindicación 1, también se consideran inventivos (Artículo 33(3) PCT).

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

1. Una composición inmunogénica que comprende polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno de los serogrupos A, C, W135 y Y que comprende polisacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo C que tiene un tamaño promedio de por encima de 75 kDa, conjugado con una proteína portadora para producir un conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis*, en donde el tamaño promedio de cada polisacárido de *N. meningitidis* está por encima de 50 kDa [75kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa o 130 kDa].
2. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 que comprende polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno de los serogrupos A, C, W135 y Y conjugado a una proteína portadora para formar conjugados de *N. meningitidis*, en donde cada polisacárido de *N. meningitidis* es o un polisacárido nativo o su tamaño ha sido aumentado con un factor de no más de x10.
3. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 ó 2 en donde cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* es un polisacárido nativo.
4. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 en donde el tamaño de al menos un polisacárido capsular de *N. meningitidis* ha sido aumentado mediante microfluidización.
5. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 ó 2 en donde el tamaño de cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* se ha aumentado mediante un factor de no más de x10.
6. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 ó 2 en donde los conjugados de *N. meningitidis* están hechos de una mezcla de polisacáridos nativos y polisacáridos cuyo tamaño ha sido aumentado con un factor de no más de x10.
7. La composición inmunogénica de la reivindicación 6 en donde el tamaño de los polisacáridos capsulares del serogrupo Y se ha aumentado con un factor de no más de x10.
8. La composición inmunogénica de la reivindicación 6 ó 7 en donde los polisacáridos capsulares de los serogrupos A y C son nativos y el tamaño de los polisacáridos de los serogrupos W135 y Y se ha aumentado con un factor de no más de x10.
9. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación precedente en donde el tamaño promedio de cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* está entre 50kDa y 300 kDa o 50 kDa y 200 kDa.

10. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-9 que comprende un polisacárido capsular de MenA que tiene un tamaño promedio por encima de 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa o un tamaño promedio entre 50 - 100 kDa o 55 - 90 kDa o 60 - 80 kDa.
11. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 - 10 que comprende un polisacárido capsular de MenC que tiene un tamaño promedio por encima de [50kDa, 75 kDa], 100 kDa o entre 100 - 200 kDa, 100 - 150 kDa, 80 - 120 kDa, 90 - 110 kDa, 150 - 200 kDa, 120 - 240 kDa, 140 - 220 kDa, 160 - 200 kDa o 190 - 200 kDa.
12. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 - 11 que comprende un polisacárido capsular de MenY que tiene un tamaño promedio por encima de 50kDa, 75 kDa, 100 kDa o entre 60 - 190 kDa o 70 - 180 kDa u 80 - 170 kDa o 90 - 160 kDa o 100 - 150 kDa, 110 - 145 kDa o 120 - 140 kDa.
13. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 - 12 que comprende un polisacárido capsular de MenW que tiene un tamaño promedio por encima de 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa o entre 60 - 190 kDa o 70 - 180 kDa u 80 - 170 kDa o 90 - 160 kDa o 100 - 160 kDa, 140 - 180 kDa, 150 - 170 kDa o 110- 140 kDa.
14. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación precedente en donde cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* está conjugado a una proteína portadora seleccionada independientemente del grupo que consiste de TT, DT, CRM197, fragmento C de TT y proteína D.
15. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación precedente en donde cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* está conjugado a la misma proteína portadora seleccionada del grupo que consiste de TT, DT, CRM197, fragmento C de TT y proteína D.
16. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación precedente en donde cada conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis* tiene una relación polisacárido:portador de 1:5 - 5:1 ó 1:1 - 1:4 (p/p).
17. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación precedente en donde al menos un conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis* está conjugado directamente a una proteína portadora.
18. La composición inmunogénica de la reivindicación 17 en donde MenW y/o MenY, MenW y/o MenC, MenY y/o MenC, o MenW y MenC y MenY están conjugados directamente a una proteína portadora.
19. La composición inmunogénica de la reivindicación 17 o 18 en donde al menos un conjugado de polisacárido de *N. meningitidis* está conjugado directamente mediante química CDAP.

20. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 17-19 en donde la relación entre el polisacárido de Men W y/o Y a proteína portadora está entre 1:0.5 y 1:2.
21. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 17-20 en donde la relación entre el polisacárido de MenC a proteína portadora está entre 1:0.5 y 1:2.
22. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-21 uno o más polisacárido(s) capsular(es) de *N. meningitidis* conjugados a la proteína portadora mediante un enlazante.
23. La composición inmunogénica de la reivindicación 22 en donde el enlazante es bifuncional.
24. La composición inmunogénica de la reivindicación 22 o 23 en donde el enlazante tiene dos grupos amino reactivos.
25. La composición inmunogénica de la reivindicación 22 o 23 en donde el enlazante tiene dos grupos ácido carboxílico reactivos.
26. La composición inmunogénica de la reivindicación 22 o 23 en donde el enlazante tiene un grupo amino reactivo en un extremo y un grupo ácido carboxílico reactivo en el otro extremo.
27. La composición inmunogénica de las reivindicaciones 22-26 en donde el enlazante tiene entre 4 y 12 átomos de carbono.
28. La composición inmunogénica de la reivindicación 22 o 23 en donde el enlazante es ADH.
29. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 22-28 en donde el o cada uno de los polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* está conjugado al enlazante con química CDAP.
30. La composición inmunogénica de la reivindicación 22-29 en donde la proteína portadora está conjugada al enlazante usando química de carbodiimida, opcionalmente usando EDAC.
31. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 22-30 en donde el o cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* está conjugado al enlazante antes de que la proteína portadora esté conjugada al enlazante.
32. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 22-31 en donde MenA está conjugado a una proteína portadora mediante un enlazante.

...

33. La composición inmunogénica de la reivindicación 32 en donde la relación entre el polisacárido de MenA y proteína portadora está entre 1:2 y 1:5.
34. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 22-33 en donde MenC está conjugado a una proteína portadora mediante un enlazante.
35. La composición inmunogénica de la reivindicación 34 en donde la relación entre el polisacárido de MenC y proteína portadora está entre 1:2 y 1:5.
36. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación precedente que comprende además un sacárido capsular de *H.influenzae b* conjugado a una proteína portadora.
37. La composición inmunogénica de la reivindicación 36 en donde el sacárido capsular de *H. influenzae b* está conjugado a una proteína portadora seleccionada del grupo que consiste de TT, DT, CRM197, fragmento C o TT y proteína D.
38. La composición inmunogénica de la reivindicación 36 o 37 en donde la relación entre Hib y proteína portadora en el conjugado de sacárido capsular de Hib está entre 1:5 y 5:1 (p/p).
39. La composición inmunogénica de la reivindicación 38 en donde la relación entre Hib y proteína portadora en el conjugado de sacárido capsular de Hib está entre 1:1 y 1:4, 1:2 y 1:3.5 o alrededor de 1:3 (p/p).
40. La composición inmunogénica de la reivindicación 38 o 39 en donde el sacárido capsular de Hib está conjugado a la proteína portadora mediante un enlazante.
41. La composición inmunogénica de la reivindicación 40 en donde el enlazante es bifuncional.
42. La composición inmunogénica de la reivindicación 40 o 41 en donde el enlazante tiene dos grupos amino reactivos.
43. La composición inmunogénica de la reivindicación 40 o 41 en donde el enlazante tiene dos grupos ácido carboxílico reactivos.
44. La composición inmunogénica de la reivindicación 40 o 41 en donde el enlazante tiene un grupo amino reactivo en un extremo y un grupo ácido carboxílico reactivo en el otro extremo.
45. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 40-44 en donde el enlazante tiene entre 4 y 12 átomos de carbono.

46. La composición inmunogénica de las reivindicaciones 40 o 1 en donde el enlazante es ADH.
47. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 36-46 en donde el sacárido de Hib está conjugado a la proteína portadora o enlazante usando CNBr o CDAP.
48. La composición inmunogénica de la reivindicación 40-47 en donde la proteína portadora está conjugada al sacárido de Hib mediante el enlazante usando un método que comprende química de carbodiimida, opcionalmente química EDAC.
49. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 36-48 que comprende un conjugado de sacárido de Hib y al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis menor que la dosis promedio de los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.
50. La composición inmunogénica de la reivindicación 49 en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis menor que la dosis de cada uno de los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.
51. La composición inmunogénica de la reivindicación 49 o 50 en donde los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden el conjugado de polisacárido capsular de *N.meningitidis* serogrupo C (MenC).
52. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 49-51 en donde los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden el conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo Y (MenY).
53. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 49-52 en donde los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden el conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo A (MenA).
54. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 49-53 en donde los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden el conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo W135 (MenW).
55. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 49-54 en donde los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden un sacárido capsular de *S.pneumoniae* derivado de una cepa seleccionada del grupo que consiste de serotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F.

H

56. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 49-55 en donde los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden un sacárido capsular de *S. typhi* VI.
57. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 49-56 en donde la dosis del conjugado de sacárido de Hib está entre 0.1 y 9 µg, 1 y 5 µg o 2 y 3 µg de sacárido.
58. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 49-57 en donde la dosis de cada uno de los al menos dos conjugados de sacárido adicionales está entre 2 y 20 µg, 3 y 10 µg o 4 y 7 µg de sacárido.
59. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 49-58 en donde la dosis del sacárido del conjugado de sacárido de Hib es menor al 90%, 75% o 60%, entre 20% y 60% o aproximadamente 50% de la dosis promedio del sacárido de los al menos dos conjugados de sacárido adicionales.
60. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 49-59 en donde la dosis de sacárido del conjugado de sacárido de Hib es menor al 90%, 75% o 60%, o está entre 20-60% o es aproximadamente 50% de la dosis de sacárido de cada uno de los al menos dos conjugados de sacárido adicionales.
61. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 49-60 en donde se usa la misma proteína portadora en el conjugado de Hib y dos o más de los al menos dos conjugados de sacárido bacterianos adicionales.
62. La composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-61 que comprende una preparación de vesícula de membrana externa o sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo B.
63. Una vacuna que comprende la composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-62 y un portador farmacéuticamente aceptable.
64. Un kit de vacuna para la administración concomitante o secuencial que comprende dos composiciones inmunogénicas multivalentes para conferir protección a un huésped contra la enfermedad causada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*, comprendiendo dicho kit un primer contenedor que comprende:
Toxoide de tétano (TT)
Toxoide de difteria (DT), y
Componentes de célula completa o acelulares de pertussis
y un segundo contenedor que comprende:
la composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-62.

65. Un proceso para preparar la vacuna de la reivindicación 63 que comprende el paso de mezclar la composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-62 con un portador farmacéuticamente aceptable.
66. Un método para inmunizar un huésped humano contra la enfermedad causada por la infección con *Neisseria meningitidis* que comprende administrar al huésped una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica o vacuna de las reivindicaciones 1-64.
67. La composición inmunogénica de las reivindicaciones 1-62 para uso en el tratamiento o prevención de la enfermedad causada por la infección con *Neisseria meningitidis*.
68. El uso de la composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1-62 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de enfermedades causadas por la infección con *Neisseria meningitidis*.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference CLJ/B61472	FOR FURTHER ACTION		See Form PCT/PEA418
International application No. PCT/EP2006/006188	International filing date (day/month/year) 23.06.2006	Priority date (day/month/year) 27.06.2005	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. A61K39/095			
Applicant GlaxoSmithKline Biologicals s.a.			
1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet. 3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising: a. ☒ sent to the applicant and to the International Bureau a total of <u>7</u> sheets, as follows: ☒ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 807 of the Administrative Instructions). ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box. b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing and/or tables related thereto, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions).			
4. This report contains indications relating to the following items: ☒ Box No. I Basis of the report ☐ 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 Article 35(2) 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			
Date of submission of the demand 2007-06-11		Date of completion of this report 28.11.2007	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80289 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tlx 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465		Authorized officer Rankin, Robert Telephone No. +49 89 2399-2658 	

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**International application No.
PCT/EP2006/006188**Box No. I Basis of the report****1. With regard to the language, this report is based on**

- ☒ 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 (under Rules 12.3(a) and 23.1(b))
 - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
 - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a))

2. With regard to the elements* of the international application, this report is based on (replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report):**Description, Pages**

1-37 as originally filed

Claims, Numbers

1-68 filed with telefax on 11.06.2007

Drawings, Sheets

1/1 as originally filed

- ☐ a sequence listing and/or any related table(s) - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing

3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages
- ☐ the claims, Nos.
- ☐ the drawings, sheets/figs
- ☐ the sequence listing (specify):
- ☐ any table(s) related to sequence listing (specify):

4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

- ☐ the description, pages
- ☐ the claims, Nos.
- ☐ the drawings, sheets/figs
- ☐ the sequence listing (specify):
- ☐ any table(s) related to sequence listing (specify):

* If item 4 applies, some or all of these sheets may be marked "superseded."

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**International application No.
PCT/EP2006/006188**Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability**

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application,
☒ claims Nos. 66 (for reasons of industrial applicability)

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 66 (for reasons of industrial applicability) relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

see separate sheet

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*);
- ☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*);
- ☐ no international search report has been established for the said claims Nos.
- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:
- ☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it,
 - ☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b) and 13ter.2.
- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.
- ☐ See separate sheet for further details

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**International application No.
PCT/EP2006/006188

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-68</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>1-68</u>
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-65, 67, 68</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):see separate sheet

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/EP2006/006188

Re Item III

Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

Claim 66 relates to subject matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject matter of this claims (Article 34(4)(a)(i) PCT)

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or Industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

For the assessment of the present claim 66 on the question whether it is industrially applicable, no unified criteria exist within the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as industrially applicable the subject matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Regarding Amendments

The amended set of claims filed with the telefax dated 11.06.2007 meet the requirements of Article 34(2)(b) PCT.

Cited Documents

Reference is made to the following documents:

- D1: WO 2004/103400 A (AVENTIS PASTEUR INC [US]; RYALL ROBERT P [US]) 2 December 2004 (2004-12-02) cited in the application
- D2: WO 03/080678 A (CHIRON SRL [IT]; COSTANTINO PAOLO [IT]; BERTI FRANCESCO [IT]; NORELLI) 2 October 2003 (2003-10-02)

Article 33(2) PCT

the subject matter of claims 1-68 is considered to be novel in light of the prior art (Article 33(2) PCT).

Article 33(3) PCT

Claims 1-68 are considered inventive (Article 33(3) PCT).

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/EP2006/006188

The closest prior art may be considered as being D1 which discloses *N. meningitidis* vaccines based on polysaccharides from serogroups A, C, W-135 or Y.

The difference between Claim 1 and D1 is that D1 teaches that the preferred sizes of the polysaccharides is between 12 and 25 Kda whereas in claim 1 the polysaccharides have an average mass of over 50 Kda with the MenC component having a mass of over 75 Kda.

The effect of the difference is that immune responses are stronger in vaccines having the features of claim 1.

The problem to be solved may therefore be considered as being to provide an improved *N. meningitidis* vaccine.

he subject matter of claim 1 solves this problem (see examples, 3 and 6 as well as Table 1 of the disclosure) and is considered inventive because the skilled person would not have been led to the solution by following the teaching of D1 which does not indicate that increased polysaccharide sizes lead to better vaccines. Indeed, D1 teaches the opposite and states that it is desirable to reduce their size to between 12 and 25 Kda by depolymerization. Likewise, D2 does not suggest using larger polysaccharides and teaches that MenA polysaccharides should be hydrolised and those under 30Kda should be used in vaccine preparation. Thus, the skilled person would not, in view of the prior art have arrived at the subject matter of claim 1 in order to solve the problem posed. Since the subject matter of claims 2-68 are dependent upon, or refer back to the claim 1, they too are also considered to be inventive (Article 33(3) PCT).

55

AMENDED CLAIMS

1. An immunogenic composition comprising *N. meningitidis* capsular polysaccharides from at least one of serogroups A, C, W135 and Y comprising *N. meningitidis* serogroup C capsular polysaccharide having an average size of above 75kDa conjugated to a carrier protein to produce a *N. meningitidis* capsular polysaccharide conjugate, wherein the average size of each *N. meningitidis* polysaccharide is above 50kDa, 75kDa, 100kDa, 110kDa, 120kDa or 130kDa].
2. The immunogenic composition of claim 1 comprising *N. meningitidis* capsular polysaccharides from at least one of serogroups A, C, W135 and Y conjugated to a carrier protein to form *N. meningitidis* conjugates, wherein each *N. meningitidis* polysaccharide is either a native polysaccharide or is sized by a factor of no more than x10.
3. The immunogenic composition of claim 1 or 2 wherein each *N. meningitidis* capsular polysaccharide is a native polysaccharide.
4. The immunogenic composition of any one of claims 1 or 2 wherein at least one *N. meningitidis* capsular polysaccharide is sized by microfluidization.
5. The immunogenic composition of claim 1 or 2 wherein each *N. meningitidis* capsular polysaccharide is sized by a factor of no more than x10.
6. The immunogenic composition of claim 1 or 2 wherein the *N. meningitidis* conjugates are made from a mixture of native polysaccharides and polysaccharides that are sized by a factor of no more than x10.
7. The immunogenic composition of claim 5 wherein capsular polysaccharides from serogroup Y are sized by a factor of no more than x10.
8. The immunogenic composition of claim 6 or 7 wherein capsular polysaccharides from serogroups A and C are native and polysaccharides from serogroups W135 and Y are sized by a factor of no more than x10.
9. The immunogenic composition of any preceding claim wherein the average size of each *N. meningitidis* capsular polysaccharide is between 50 kDa and 300 kDa or 50kDa and 200kDa.

10. The immunogenic composition of any one of claims 1-9 comprising a MenA capsular polysaccharide having an average size of above 50kDa, 75kDa, 100kDa or an average size of between 50-100kDa or 55-90kDa or 60-80kDa.
11. The immunogenic composition of any one of claims 1-10 comprising a MenC capsular polysaccharide having an average size of above [50kDa, 75kDa,] 100kDa or between 100-200kDa, 100-150kDa, 80-120kDa, 90-110kDa, 150-200kDa, 120-240kDa, 140-220kDa, 160-200kDa or 190-200kDa.
12. The immunogenic composition of any one of claims 1-11 comprising a MenY capsular polysaccharide, having an average size of above 50kDa, 75kDa, 100kDa or between 60-190kDa or 70-180kDa or 80-170kDa or 90-180kDa or 100-160kDa, 110-145kDa or 120-140kDa.
13. The immunogenic composition of any one of claims 1-12 comprising a MenW capsular polysaccharide having an average size of above 50kDa, 75kDa, 100kDa or between 60-190kDa or 70-180kDa or 80-170kDa or 90-160kDa or 100-160kDa, 140-180kDa, 150-170kDa or 110-140kDa.
14. The immunogenic composition of any preceding claim wherein each *N. meningitidis* capsular polysaccharide is conjugated to a carrier protein independently selected from the group consisting of TT, DT, CRM197, fragment C of TT and protein D.
15. The immunogenic composition of any preceding claim wherein each *N. meningitidis* capsular polysaccharide is conjugated to the same carrier protein selected from the group consisting of TT, DT, CRM197, fragment C of TT and protein D.
16. The immunogenic composition of any preceding claim wherein each *N. meningitidis* capsular polysaccharide conjugate has a polysaccharide:carrier ratio of 1:5-5:1 or 1:1-1:4(w/w).
17. The immunogenic composition of any preceding claim wherein at least one *N. meningitidis* capsular polysaccharide conjugate is directly conjugated to a carrier protein.
18. The immunogenic composition of claim 17 wherein Men W and/or MenY, MenW and/or MenC, MenY and/or MenC, or MenW and MenC and MenY are directly conjugated to a carrier protein.
19. The immunogenic composition of claim 17 or 18 wherein at least one *N. meningitidis* polysaccharide conjugate is directly conjugated by CDAP chemistry.

20. The immunogenic composition of any one of claims 17-19 wherein the ratio of Men W and/or Y polysaccharide to carrier protein is between 1:0.5 and 1:2.
21. The immunogenic composition of any one of claims 17-20 wherein the ratio of MenC polysaccharide to carrier protein is between 1:0.5 and 1:2.
22. The immunogenic composition of any one of claims 1-21 one or more *N. meningitidis* capsular polysaccharide(s) conjugated to the carrier protein via a linker.
23. The immunogenic composition of claim 22 wherein the linker is bifunctional.
24. The immunogenic composition of claim 22 or 23 wherein the linker has two reactive amino groups.
25. The immunogenic composition of claim 22 or 23 wherein the linker has two reactive carboxylic acid groups.
26. The immunogenic composition of claim 22 or 23 wherein the linker has a reactive amino group at one end and a reactive carboxylic acid group at the other end.
27. The immunogenic composition of claim 22-26 wherein the linker has between 4 and 12 carbon atoms.
28. The immunogenic composition of claim 22 or 23 wherein the linker is ADH.
29. The immunogenic composition of any one of claims 22-28 wherein the or each of the *N. meningitidis* capsular polysaccharides is conjugated to the linker with CDAP chemistry.
30. The immunogenic composition of claim 22-29 wherein the carrier protein is conjugated to the linker using carbodiimide chemistry, optionally using EDAC.
31. The immunogenic composition of any one of claims 22-30 wherein the or each *N. meningitidis* capsular polysaccharide is conjugated to the linker before the carrier protein is conjugated to the linker.
32. The immunogenic composition of any one of claims 22-31 wherein MenA is conjugated to a carrier protein via a linker.

58

33. The immunogenic composition of claim 32 wherein the ratio of MenA polysaccharide to carrier protein is between 1:2 and 1:5.
34. The immunogenic composition of any one of claims 22-33 wherein MenC is conjugated to a carrier protein via a linker.
35. The immunogenic composition of claim 34 wherein the ratio of MenC polysaccharide to carrier protein is between 1:2 and 1:5.
36. The immunogenic composition of any preceding claim further comprising a *H. Influenzae* b capsular saccharide conjugated to a carrier protein.
37. The immunogenic composition of claim 36 wherein the *H. Influenzae* b capsular saccharide is conjugated to a carrier protein selected from the group consisting of TT, DT, CRM197, fragment C of TT and protein D.
38. The immunogenic composition of claim 36 or 37 wherein the ratio of Hib to carrier protein in the Hib capsular saccharide conjugate is between 1:5 and 5:1 (w/w).
39. The immunogenic composition of claim 38 wherein the ratio of Hib to carrier protein in the Hib capsular saccharide conjugate is between 1:1 and 1:4, 1:2 and 1:3.6 or around 1:3 (w/w).
40. The immunogenic composition of claim 38 or 39 wherein the the Hib capsular saccharide is conjugated to the carrier protein via a linker.
41. The immunogenic composition of claim 40 wherein the linker is bifunctional.
42. The immunogenic composition of claim 40 or 41 wherein the linker has two reactive amino groups.
43. The immunogenic composition of claim 40 or 41 wherein the linker has two reactive carboxylic acid groups.
44. The immunogenic composition of claim 40 or 41 wherein the linker has a reactive amino group at one end and a reactive carboxylic acid group at the other end.
45. The immunogenic composition of any one of claims 40-44 wherein the linker has between 4 and 12 carbon atoms.

46. The immunogenic composition of claim 40 or 1 wherein the linker is ADH.
47. The immunogenic composition of any one of claims 36-46 wherein the Hib saccharide is conjugated to the carrier protein or linker using CNBr or CDAP.
48. The immunogenic composition of claim 40-47 wherein the carrier protein is conjugated to the Hib saccharide via the linker using a method comprising carbodiimide chemistry, optionally EDAC chemistry.
49. The immunogenic composition of any one of claims 36-48 comprising a Hib saccharide conjugate and at least two further bacterial saccharide conjugates wherein the Hib conjugate is present in a lower dose than the mean dose of the at least two further bacterial saccharide conjugates.
50. The immunogenic composition of claim 49 wherein the Hib conjugate is present in a lower dose than the dose of each of the at least two further bacterial saccharide conjugates.
51. The immunogenic composition of claim 49 or 50 wherein the at least two further bacterial saccharide conjugates comprise *N. meningitidis* serogroup C capsular polysaccharide (MenC) conjugate.
52. The immunogenic composition of any one of claims 49-51 wherein the at least two further bacterial saccharide conjugates comprises *N. meningitidis* serogroup Y capsular polysaccharide (MenY) conjugate.
53. The immunogenic composition of any one of claims 49-52 wherein the at least two further bacterial saccharide conjugates comprise *N. meningitidis* serogroup A capsular polysaccharide (MenA) conjugate.
54. The immunogenic composition of any one of claims 49-53 wherein the at least two further bacterial saccharide conjugates comprise *N. meningitidis* serogroup W135 capsular polysaccharide (MenW) conjugate.
55. The immunogenic composition of any one of claims 49-54 wherein the at least two further bacterial saccharide conjugates comprise a *S. pneumoniae* capsular saccharide derived from a strain selected from the group consisting of serotypes 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F and 33F.

56. The immunogenic composition of any one of claims 49-55 wherein the at least two further bacterial saccharide conjugates comprise a *S. typhi* Vi capsular saccharide.
57. The immunogenic composition of any one of claims 49-56 wherein the dose of the Hib saccharide conjugate is between 0.1 and 9µg, 1 and 5µg or 2 and 3µg of saccharide.
58. The immunogenic composition of any one of claims 49-57 wherein the dose of each of the at least two further saccharide conjugates is between 2 and 20µg, 3 and 10µg or 4 and 7µg of saccharide.
59. The immunogenic composition of any one of claims 49-58 wherein the saccharide dose of the Hib saccharide conjugate is less than 90%, 75% or 60% , between 20% and 60% or around 50% of the mean saccharide dose of the at least two further saccharide conjugates.
60. The immunogenic composition of any one of claims 49-59 wherein the saccharide dose of the Hib saccharide conjugate is less than 90%, 75% or 60% or is between 20-60% or is around 50% of the saccharide dose of each of the at least two further saccharide conjugates.
61. The immunogenic composition of any one of claims 49-60 wherein the same carrier protein is used in the Hib conjugate and two or more of the at least two further bacterial saccharide conjugates.
62. The immunogenic composition of any one of claims 1-61 comprising a *N. meningitidis* serogroup B outer membrane vesicle preparation or capsular saccharide.
63. A vaccine comprising the immunogenic composition of any one of claims 1-62 and a pharmaceutically acceptable carrier.
64. A vaccine kit for concomitant or sequential administration comprising two multi-valent immunogenic compositions for conferring protection in a host against disease caused by *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Haemophilus influenzae* and *Neisseria meningitidis*, said kit comprising a first container comprising :

tetanus toxoid (TT),
diphtheria toxoid (DT), and
wholecell or acellular pertussis components

and a second container comprising:

the immunogenic composition of any one of claims 1-62.

65. A process for making the vaccine of claim 63 comprising the step of mixing the immunogenic composition of any one of claims 1-62 with a pharmaceutically acceptable carrier.
66. A method of immunising a human host against disease caused by *Neisseria meningitidis* infection comprising administering to the host an immunoprotective dose of the immunogenic composition or vaccine of claims 1-64.
67. The immunogenic composition of claims 1-62 for use in the treatment or prevention of disease caused by *Neisseria meningitidis* infection.
68. The use of the immunogenic composition of any one of claims 1-62 in the manufacture of a medicament for the treatment or prevention of diseases caused by *Neisseria meningitidis* infection.

COMPOSICIÓN INMUNOGENICA

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

- 5 La presente solicitud describe una composición inmunogénica que comprende polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno de los serogrupos A, C, W135 e Y conjugados con una proteína vehículo para producir un conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis*, en el que el tamaño medio de cada polisacárido de *N. meningitidis* es superior a 50 kDa.

10

63

COMPOSICIÓN INMUNOGÉNICA

La presente invención se refiere a composiciones inmunogénicas que comprenden polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* conjugados con una
5 proteína vehículo. Adicionalmente se refiere a vacunas y kits de vacuna que comprenden conjugados de polisacárido de *N. meningitidis*, procedimientos para preparar las composiciones inmunogénicas y vacunas y el uso de las vacunas y composiciones inmunogénicas de la invención en terapia. También se refiere a procedimientos para inmunizar contra infección por *Neisseria*
10 usando los conjugados de polisacárido de *N. meningitidis* y el uso de conjugados de polisacárido de *N. meningitidis* en la fabricación de un medicamento.

Neisseria meningitidis es un patógeno humano Gram-negativo que causa meningitis bacteriana. En base al polisacárido capsular del organismo,
15 se han identificado doce serogrupos de *N. meningitidis* (A, B, C, H, I, K, L, 29E, W135, X, Y y Z). El serogrupo A (MenA) es la causa más habitual de enfermedad epidémica en África subsahariana. Los serogrupos B y C son responsables de la mayoría de los casos en países en vías de desarrollo, estando causados los casos restantes por W135 e Y.

20 Se conocen en la técnica composiciones inmunogénicas que comprenden sacáridos de *N. meningitidis* conjugados con proteínas vehículo. Por ejemplo, el documento WO 02/58737 describe una vacuna que comprende polisacáridos capsulares purificados de los serogrupos A, C, W135 e Y de *N. meningitidis* conjugados con una proteína vehículo. Sin embargo, esta solicitud
25 muestra que los polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* extraídos deben

despolimerizarse por calor en una solución de peróxido de hidrógeno antes de la conjugación.

El documento WO 03/07985 describe vacunas conjugadas que comprenden sacárido de *N. meningitidis* seleccionado entre los serogrupos A, C, W135 e Y. Los polisacáridos capsulares de meningococos se extraen y después se hidrolizan de modo que se usa una selección de oligosacáridos obtenidos de los polisacáridos capsulares para la conjugación con una proteína vehículo.

El documento WO 04/103400 también describe un conjugado polisacárido derivado de meningococos-proteína multivalente que contiene polisacáridos capsulares derivados de los serogrupos A, C, W135 e Y de *N. meningitidis*. Esta solicitud muestra que, en lugar de usar el polisacárido capsular nativo grande, se prefiere el uso de polisacáridos de meningococos de un tamaño más pequeño. Se sugiere que los polisacáridos capsulares se despolimericen parcialmente usando condiciones oxidativas moderadas para dar un tamaño medio de menos de 100.000 dalton, preferiblemente 12.000 a 25.000 dalton.

Sigue existiendo una necesidad de desarrollar vacunas conjugadas mejoradas contra meningitis por neisseria. La presente invención se refiere al suministro de una vacuna conjugada de polisacárido de meningococos en la que el tamaño de los polisacáridos es mayor que el mostrado en la bibliografía. El objetivo de la técnica ha sido usar oligosacáridos para facilitar la producción de conjugado. Se ha descubierto que usando conjugados de polisacáridos nativos o de un tamaño ligeramente diferente, pueden conseguirse una o más de las siguientes ventajas: 1) un conjugado que tiene alta inmunogenicidad que

se puede filtrar; 2) puede potenciarse la memoria inmune (como en el ejemplo tres); 3) la alteración de la proporción de polisacárido a proteína en el conjugado de modo que pueda aumentarse la proporción de polisacárido a proteína (p/p) en el conjugado (esto puede provocar una reducción del efecto
 5 supresor del vehículo); 4) los conjugados inmunogénicos propensos a la hidrólisis (tales como conjugados MenA) pueden estabilizarse por el uso de polisacáridos más grandes para la conjugación. El uso de polisacáridos más grandes puede provocar mayor entrecruzamiento con el vehículo del conjugado y por lo tanto menos escisión de los sacáridos libres del conjugado. Las
 10 vacunas conjugadas descritas en la técnica anterior tienden a despolimerizar los polisacáridos antes de la conjugación para mejorar la conjugación. La presente invención se refiere a una estrategia diferente y muestra sorprendentemente que vacunas conjugadas de meningococos que retienen un tamaño superior del polisacárido proporcionan una buena respuesta inmune
 15 contra enfermedad por meningococos.

Por consiguiente, en un aspecto de la presente invención se proporciona una composición inmunogénica que comprende polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno, dos, tres o cuatro de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo, donde el tamaño medio de cada
 20 polisacárido de *N. meningitidis* es superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa o 130 kDa.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención se proporciona una vacuna que comprende la composición inmunogénica de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención se proporciona un kit de vacuna para administración concomitante o secuencial que comprende dos composiciones inmunogénicas multivalentes para proporcionar protección en un hospedera contra enfermedad causada por

5 *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*, comprendiendo dicho kit un primer recipiente que comprende:

toxoides tetánico (TT),

toxoides diftérico (DT), y

10 componentes de células enteras o componentes acelulares de pertussis y un segundo recipiente que comprende:

polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno, dos, tres o cuatro de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo, donde el tamaño medio del polisacárido o de cada polisacárido de *N.*

15 *meningitidis* es superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa o 130 kDa.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un procedimiento para preparar la composición inmunogénica o vacuna de la invención que comprende la etapa de mezclar polisacáridos capsulares de *N.*

20 *meningitidis* de al menos uno, dos, tres o cuatro de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo, opcionalmente con un excipiente farmacéuticamente aceptable, donde el tamaño medio del polisacárido o cada polisacárido de *N. meningitidis* es superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa o 130 kDa.

GA

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención se proporciona un procedimiento para inmunizar un hospedera humano contra enfermedad causada por *Neisseria meningitidis* que comprende administrar al hospedera una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica o vacuna de la invención.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención se proporciona una composición inmunogénica de la invención para su uso en el tratamiento o prevención de enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención se proporciona un uso de la composición inmunogénica o vacuna de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedades causadas por *Neisseria meningitidis*.

Descripción de las figuras

Figura 1 - A - Representación de barras que muestra respuestas GMC en un ELISA anti-MenY. ENYTT012 es un conjugado MenY-TT preparado a partir de polisacárido MenY nativo. ENYTT014 es un conjugado MenY-TT preparado a partir de polisacárido MenY microfluidizado que ha experimentado 40 ciclos de microfluidización. ENYTT015bis es un conjugado MenY-TT preparado a partir de polisacárido MenY microfluidizado que ha experimentado 20 ciclos de microfluidización.

- B - Representación de barras que muestra respuestas GMT en un ensayo SBA anti-MenY. ENYTT012 es un conjugado MenY-TT preparado a partir de polisacárido MenY nativo. ENYTT014 es un conjugado MenY-TT preparado a partir de polisacárido MenY microfluidizado que ha experimentado 40 ciclos de microfluidización. ENYTT015bis es un conjugado MenY-TT

preparado a partir de polisacárido MenY microfluidizado que ha experimentado 20 ciclos de microfluidización.

Descripción detallada

Una composición inmunogénica de la invención comprende
 5 polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno, dos, tres o cuatro de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo, donde el tamaño medio (peso molecular medio en peso; Mw) de al menos uno, dos, tres o cuatro o cada polisacárido de *N. meningitidis* es superior a 50 kDa, 60 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa o 130 kDa.

10 En un aspecto independiente de la invención, la composición inmunogénica comprende polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno, dos, tres o cuatro de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo, donde al menos uno, dos, tres o cuatro o cada polisacárido de *N. meningitidis* es un polisacárido nativo o tiene un tamaño
 15 ajustado por un factor de hasta x1,5, x2, x3, x4, x5, x6, x7, x8, x9 o x10 con relación al peso molecular medio en peso del polisacárido nativo.

Para los propósitos de la invención, "polisacárido nativo" se refiere a un polisacárido que no se ha sometido a un procedimiento, el propósito del cual es reducir el tamaño del polisacárido. Un polisacárido puede llegar a reducirse
 20 ligeramente en tamaño durante procedimientos de purificación normales. Dicho polisacárido aún es nativo. Sólo si el polisacárido se ha sometido a técnicas de ajuste de tamaño no se consideraría que el polisacárido fuera nativo.

Para los propósitos de la invención, "tamaño ajustado por un factor de hasta x2" significa que el polisacárido se somete a un procedimiento pretendido
 25 para reducir el tamaño del polisacárido pero para que retenga un tamaño de

más de la mitad del tamaño del polisacárido nativo. X3, x4 etc. deben interpretarse del mismo modo, es decir, el polisacárido se somete a un procedimiento pretendido para reducir el tamaño del polisacárido pero para que retenga un tamaño de más de una tercera parte, una cuarta parte, etc. del tamaño del polisacárido nativo respectivamente.

En un aspecto de la invención, la composición inmunogénica comprende polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno, dos, tres o cuatro de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo, donde al menos uno, dos, tres o cuatro o cada polisacárido de *N. meningitidis* es polisacárido nativo.

En un aspecto de la invención, la composición inmunogénica comprende polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno, dos, tres o cuatro de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo, donde al menos uno, dos, tres o cuatro o cada polisacárido de *N. meningitidis* tiene el tamaño ajustado por un factor de hasta x1,5, x2, x3, x4, x5, x6, x7, x8, x9 o x10.

Las composiciones inmunogénicas de la invención comprenden opcionalmente conjugados de: polisacárido capsular del serogrupo C de *N. meningitidis* (MenC), polisacárido capsular del serogrupo A (MenA), polisacárido capsular del serogrupo W135 (MenW), polisacárido capsular del serogrupo Y (MenY), polisacáridos capsulares del serogrupo C e Y (MenCY), polisacáridos capsulares del serogrupo C y A (MenAC), polisacáridos capsulares del serogrupo C y W (MenCW), polisacárido capsular del serogrupo A e Y (MenAY), polisacáridos capsulares del serogrupo A y W (MenAW), polisacáridos capsulares del serogrupo W e Y (MenWY), polisacárido capsular

del serogrupo A, C y W (MenACW), polisacáridos capsulares del serogrupo A, C e Y (MenACY); polisacáridos capsulares del serogrupo A, W135 e Y (MenAWY), polisacáridos capsulares del serogrupo C, W135 e Y (MenCWY); o polisacáridos capsulares del serogrupo A, C, W135 e Y (MenACWY). Esta es la
 5 definición de “uno, dos, tres o cuatro”, o “al menos uno de” de los serogrupos A, C, W e Y, o de cada polisacárido de *N. meningitidis* cuando se menciona en este documento.

En una realización, el tamaño medio (o peso molecular) de al menos uno, dos, tres o cuatro o cada polisacárido de *N. meningitidis* es de 50 kDa-
 10 1500 kDa, 50 kDa-500 kDa, 50 kDa-300 kDa, 101 kDa-1500 kDa, 101 kDa-500 kDa o 101 kDa-300 kDa determinado por MALLS.

En una realización, el polisacárido MenA, cuando está presente, tiene un peso molecular de 50-500 kDa, 50-100 kDa, 100-500 kDa, 55-90 kDa, 60-70 kDa o 70-80 kDa o 60-80 kDa determinado por MALLS.

15 En una realización, el polisacárido MenC, cuando está presente, tiene un peso molecular de 100-200 kDa, 50-100 kDa, 100-150 kDa, 101-130 kDa, 150-210 kDa o 180-210 kDa determinado por MALLS.

En una realización el polisacárido MenY, cuando está presente, tiene un peso molecular de 60-190 kDa, 70-180 kDa, 80-170 kDa, 90-160 kDa, 100-150
 20 kDa o 110-140 kDa, 50-100 kDa, 100-140 kDa, 140-170 kDa o 150-160 kDa determinado por MALLS.

En una realización el polisacárido MenW, cuando está presente, tiene un peso molecular de 60-190 kDa, 70-180 kDa, 80-170 kDa, 90-160 kDa, 100-150 kDa, 110-140 kDa, 50-100 kDa o 120-140 kDa determinado por MALLS.

El peso molecular o peso molecular medio de un polisacárido en este documento se refiere al peso molecular medio en peso (Mw) del polisacárido medido antes de la conjugación y se mide por MALLS.

La técnica MALLS es bien conocida en la técnica y típicamente se
5 realiza como se describe en el ejemplo 2. Para el análisis MALLS de sacáridos de meningococos, pueden usarse dos columnas (TSKG6000 y 5000PWxl TOSOH Bioscience) en combinación y los sacáridos se eluyen en agua. Los sacáridos se detectan usando un detector de dispersión de luz (por ejemplo, Wyatt Dawn DSP equipado con un láser de argón de 10 mW a 488 nm) y un
10 refractómetro interferométrico (por ejemplo, Wyatt Otilab DSP equipado con una célula P100 y un filtro en el rojo a 498 nm).

En una realización, los polisacáridos de *N. meningitidis* son polisacáridos nativos o polisacáridos nativos a los que se les ha reducido el tamaño durante un procedimiento de extracción normal.

15 En una realización, los polisacáridos de *N. meningitidis* tienen un tamaño ajustado por escisión mecánica, por ejemplo por microfluidización o sonicación. La microfluidización y sonicación tienen la ventaja de disminuir el tamaño de los polisacáridos nativos más grandes de manera suficiente para proporcionar un conjugado que se pueda filtrar. El ajuste de tamaño se hace por un factor de no
20 más de x20, x10, x8, x6, x5, x4, x3, x2 o x1,5.

En una realización, la composición inmunogénica comprende conjugados de *N. meningitidis* que están preparados a partir de una mezcla de polisacáridos nativos y polisacáridos que tienen el tamaño ajustado por un factor de no más de x20. Por ejemplo, polisacáridos de MenC y/o MenA son
25 nativos. Por ejemplo, polisacáridos de MenY y/o MenW tienen el tamaño

ajustado por un factor de no más de x20, x10, x8, x6, x5, x4, x3, x2 o x1,5. Por ejemplo, una composición inmunogénica contiene un conjugado preparado a partir de MenY y/o MenW y/o MenC y/o MenA que tienen el tamaño ajustado por un factor de no más de x20, x10, x8, x6, x5, x4, x3, x2 o x1,5 y/o están microfluidizados. Por ejemplo, una composición inmunogénica contiene un conjugado preparado a partir de MenA y/o MenC y/o MenW y/o MenY nativos. Por ejemplo, una composición inmunogénica comprende un conjugado preparado a partir de MenC nativo. Por ejemplo, una composición inmunogénica comprende un conjugado preparado a partir de MenC nativo y MenA que tiene el tamaño ajustado por un factor de no más de x20, x10, x8, x6, x5, x4, x3, x2 o x1,5 y/o está microfluidizado. Por ejemplo, una composición inmunogénica comprende un conjugado preparado a partir de MenC nativo y MenY que tiene el tamaño ajustado por un factor de no más de x20, x10, x8, x6, x5, x4, x3, x2 o x1,5 y/o está microfluidizado.

En una realización, la polidispersidad del polisacárido es 1-1,5, 1-1,3, 1-1,2, 1-1,1 o 1-1,05 y después de la conjugación con una proteína vehículo, la polidispersidad del conjugado es 1,0-2,5, 1,0-2,0, 1,0-1,5, 1,0-1,2, 1,5-2,5, 1,7-2,2 o 1,5-2,0. Todas las medidas de polidispersidad son por MALLS.

Opcionalmente, se ajusta el tamaño de los polisacáridos hasta 1,5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 ó 20 veces del tamaño del polisacárido aislado de las bacterias.

En una realización, la composición inmunogénica de la invención comprende adicionalmente un antígeno del serogrupo B de *N. meningitidis*. El antígeno es opcionalmente un polisacárido capsular del serogrupo B de *N. meningitidis* (MenB) o un polisacárido con el tamaño ajustado o un

oligosacárido derivado del mismo. El antígeno opcionalmente es una preparación de vesícula de membrana externa del serogrupo B de *N. meningitidis* como se describe en los documentos EP301992, WO 01/09350, WO 04/14417, WO 04/14418 y WO 04/14419.

- 5 En una realización, la composición inmunogénica de la invención comprende adicionalmente un sacárido capsular de *H. influenzae* b (Hib) conjugado con una proteína vehículo.

El polisacárido o polisacáridos de *N. meningitidis* (y opcionalmente el sacárido capsular de Hib) incluidos en composiciones farmacéuticas de la invención se conjugan con una proteína vehículo tal como toxoide tetánico, fragmento C de toxoide tetánico, mutantes no tóxicos de la toxina del tétanos, toxoide diftérico, CRM197, otros mutantes no tóxicos de la toxina de la difteria [tales como CRM176, CRM 197, CRM228, CRM 45 (Uchida y col. J. Biol. Chem. 218; 3838-3844, 1973); CRM 9, CRM 45, CRM102, CRM 103 y

10 CRM107 y otras mutaciones descritas por Nicholls y Youle en Genetically Engineered Toxins, Ed: Frankel, Maecel Dekker Inc, 1992; delección o mutación de Glu-148 a Asp, Gln o Ser y/o Ala 158 a Gly y otras mutaciones descritas en el documento 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 descritas en

15 el documento US 5917017 o US 6455673; o fragmento descrito en el documento US 5843711], neumolisina de neumococos, OMPC (proteína de membrana externa de meningococos - habitualmente extraída del serogrupo B de *N. meningitidis* - documento EP0372501), péptidos sintéticos (documentos EP0378881, EP0427347), proteínas de choque térmico (documentos WO

20 93/17712, WO 94/03208), proteínas de pertussis (documentos WO 98/58668,

25

EP0471177), citoquinas, linfoquinas, factores u hormonas de crecimiento (documento WO 91/01146), proteínas artificiales que comprenden múltiples epítopes de células T CD4+ humanas de diversos antígenos derivados de patógenos (Falugi y col. (2001) Eur J Immunol 31; 3816-3824) tales como
 5 proteína N19 (Baraldoi y col. (2004) Infect Immun 72; 4884-7), proteína superficial PspA de neumococos (documento WO 02/091998) neumolisina (Kuo y col. (1995) Infect Immun 63; 2706-13), proteínas de captación de hierro (documento WO 01/72337), toxina A o B de *C. difficile* (documento WO 00/61761) o Proteína D (documentos EP594610 y WO 00/56360).

10 En una realización, la composición inmunogénica de la invención usa la misma proteína vehículo (independientemente) en al menos dos, tres, cuatro o cada polisacárido de *N. meningitidis*. En una realización en la que está presente Hib, puede conjugarse Hib con la misma proteína vehículo que la de al menos uno, dos, tres o cuatro o cada polisacárido de *N. meningitidis*. Por
 15 ejemplo, se conjugan independientemente 1, 2, 3 ó 4 de los polisacáridos de *N. meningitidis* con el toxoide tetánico para preparar 1, 2, 3 ó 4 conjugados.

En una realización, una única proteína vehículo puede llevar más de un antígeno sacárido (documento WO 04/083251). Por ejemplo, puede conjugarse una única proteína vehículo con MenA y MenC; MenA y MenW; MenA y MenY;
 20 MenC y MenW; MenC y MenY; MenW y MenY; MenA, MenC y MenW; MenA, MenC y MenY; MenA, MenW y MenY; MenC, MenW y MenY; MenA, MenC, MenW y MenY; Hib y MenA; Hib y MenC; Hib y MenW; o Hib y MenY.

En una realización, la composición inmunogénica de la invención comprende un polisacárido de *N. meningitidis* conjugado con una proteína

vehículo seleccionada entre el grupo constituido por TT, DT, CRM197, fragmento C de TT y proteína D.

En una realización, la composición inmunogénica de la invención comprende un sacárido Hib conjugado con una proteína vehículo seleccionada
5 entre el grupo constituido por TT, DT, CRM197, fragmento C de TT y proteína D.

La composición inmunogénica de la invención comprende opcionalmente al menos un sacárido de meningococos (por ejemplo MenA; MenC; MenW; MenY; MenA y MenC; MenA y MenW; MenA y MenY; MenC y MenW; MenC y
10 MenY; MenW y MenY; MenA, MenC y MenW; MenA, MenC y MenY; MenA, MenW y MenY; MenC, MenW y MenY o MenA, MenC, MenW y MenY) conjugado que tiene una proporción de sacárido Men a proteína vehículo entre 1:5 y 5:1, entre 1:2 y 5:1, entre 1:0,5 y 1:2,5 o entre 1:1,25 y 1:2,5 (p/p).

La composición inmunogénica de la invención comprende opcionalmente
15 un conjugado de sacárido Hib que tiene una proporción de Hib a proteína vehículo entre 1:5 y 5:1; 1:2 y 2:1; 1:1 y 1:4; 1:2 y 1:3,5; o alrededor o exactamente 1:2,5 o 1:3 (p/p). Por 'alrededor' se entiende en un 10% de la proporción indicada.

La proporción de sacárido a proteína vehículo (p/p) en un conjugado
20 puede determinarse usando el conjugado esterilizado. La cantidad de proteína se determina usando un ensayo de Lowry (por ejemplo Lowry y col. (1951) J. Biol. Chem. 193, 265-275 o Peterson y col. Analytical Biochemistry 100, 201-220 (1979)) y la cantidad de sacárido se determina usando ICP-OES (espectroscopía de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente) para

MenA, ensayo DMAP para MenC y ensayo con Resorcinol para MenW y MenY (Monsigny y col. (1988) Anal. Biochem. 175, 525-530).

En una realización de la composición inmunogénica de la invención, se conjugua el polisacárido o polisacáridos de *N. meningitidis* y/o el sacárido Hib
5 con la proteína vehículo mediante un enlazante, por ejemplo un enlazante bifuncional. El enlazante es opcionalmente heterobifuncional u homobifuncional, que tiene por ejemplo un grupo amino reactivo y un grupo ácido carboxílico reactivo, 2 grupos amino reactivos o dos grupos ácido carboxílico reactivos. El enlazante tiene por ejemplo entre 4 y 20, 4 y 12, 5 y 10
10 átomos de carbono. Un posible enlazante es ADH. Otros enlazantes incluyen B-propionamido (documento WO 00/10599), nitrofenil-etilamina (Gever y col. (1979) Med. Microbiol. Immunol. 165; 171-288), haluros de haloalquilo (documento US4057685), enlaces glicosídicos (documentos US4673574, US4808700), hexanodiamina y ácido 6-aminocaproico (documento
15 US4459286).

Los conjugados de polisacárido presentes en las composiciones inmunogénicas de la invención pueden prepararse por cualquier técnica de acoplamiento conocida. El procedimiento de conjugación puede depender de la activación del sacárido con tetrafluoroborato de 1-ciano-4-dimetilaminopiridinio
20 (CDAP) para formar un éster cianato. El sacárido activado de este modo puede acoplarse directamente o mediante un grupo espaciador (enlazante) a un grupo amino de la proteína vehículo. Por ejemplo, el espaciador podría ser cistamina o cisteamina para dar un polisacárido tiolado que podría acoplarse al vehículo por un enlace tioéter obtenido después de la reacción una proteína vehículo
25 activada con maleimida (por ejemplo usando GMBS) o una proteína vehículo

holoacetilada (por ejemplo usando yodoacetimida o bromoacetato de *N*-succinimidilo). Preferiblemente, el éster cianato (opcionalmente preparado por química de CDAP) se acopla con hexanodiamina o ADH y el sacárido derivatizado con amino se conjuga con la proteína vehículo usando química de carbodiimida (por ejemplo EDAC o EDC). Dichos conjugados se describen en la solicitud publicada PCT WO 93/15760 Uniformed Services University y los documentos WO 95/08348 y WO 96/29094.

Otras técnicas adecuadas usan carbiinidas, hidrazidas, ésteres activos, norborano, ácido *p*-nitrobenzoico, *N*-hidroxisuccinimida, S-NHS, EDC, TSTU. Muchos se describen en el documento WO 98/42721. La conjugación puede implicar un enlazante carbonilo que puede formarse por reacción de un grupo hidroxilo libre del sacárido con CDI (Bethell y col. J. Biol. Chem. 1979, 254; 2572-4, Hearn y col. J. Chromatogr. 1981. 218; 509-18) seguido por reacción de ello con una proteína para formar un enlace carbamato. Esto puede implicar la reducción del extremo anomérico en un grupo hidroxilo primario, protección/desprotección opcional del grupo hidroxilo primario, reacción del grupo hidroxilo primario con CDI para formar un intermedio CDI carbamato y acoplar el intermedio de CDI carbamato con un grupo amino en una proteína.

Los conjugados también pueden prepararse por procedimientos de aminación reductora directa como se describe en el documento US 4365170 (Jennings) y el documento US 4673574 (Anderson). Otros procedimientos se describen en los documentos EP-0-161-188, EP-208375 y EP-0-477508.

Un procedimiento adicional implica el acoplamiento de un sacárido activado con bromuro de cianógeno (o CDAP) derivatizado con hidrazida del ácido adípico (ADH) con la proteína vehículo por condensación con

Carbodiimida (Chu C. y col. Infect. Immunity, 1983 245 256), por ejemplo usando EDAC.

En una realización, se une un grupo hidroxilo (preferiblemente un grupo hidroxilo activado por ejemplo un grupo hidroxilo activado por un éster cianato) en un sacárido con un grupo amino o carboxílico en una proteína directa o indirectamente (a través de un enlazante). Cuando está presente un enlazante, preferiblemente se une un grupo hidroxilo en un sacárido a un grupo amino en un enlazante, por ejemplo, usando conjugación con CDAP. Un grupo amino adicional en el enlazante por ejemplo ADH, puede conjugarse con un grupo ácido carboxílico en una proteína, por ejemplo usando química de carbodiimida, por ejemplo usando EDAC. En una realización, el polisacárido o polisacáridos capsulares de Hib o de *N. meningitidis* se conjuga con el enlazante primero antes de que se conjugue el enlazante con la proteína vehículo.

En una realización, el sacárido de Hib, cuando está presente, se conjuga con la proteína vehículo usando química de CNBr, o CDAP, o una combinación de CDAP y carbodiimida (tal como EDAC), o una combinación de química de CNBr y carbodiimida (tal como EDAC). Preferiblemente se conjuga Hib usando química de CNBr y carbodiimida, preferiblemente EDAC. Por ejemplo, se usa CNBr para unir el sacárido y el enlazante y después se usa química de carbodiimida para unir el enlazante con la proteína vehículo.

En una realización, al menos uno de los polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* se conjuga directamente con una proteína vehículo; preferiblemente se conjuga directamente un sacárido o sacáridos Men W y/o MenY y/o MenC con una proteína vehículo. Por ejemplo, se unen directamente

MenW; MenY; MenC; MenW y MenY; MenW y MenC; MenY y MenC; o MenW, MenY y MenC con la proteína vehículo. Preferiblemente, al menos uno de los polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* se conjuga directamente por CDAP. Por ejemplo, se unen directamente MenW; MenY; MenC; MenW y MenY; 5 MenW y MenC; MenY y MenC; o MenW, MenY y MenC con la proteína vehículo por CDAP (véanse los documentos WO 95/08348 y WO 96/29094). En una realización, todos los polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* se conjugan con el toxoide tetánico.

Preferiblemente, la proporción de sacárido Men W y/o Y a proteína 10 vehículo está entre 1:0,5 y 1:2 (p/p) y/o la proporción de sacárido MenC a proteína vehículo está entre 1:0,5 y 1:4 ó 1:1,25-1:1,5 ó 1:0,5 y 1:1,5 (p/p), especialmente cuando estos sacáridos se unen directamente a la proteína, preferiblemente usando CDAP.

En una realización, al menos uno de los polisacáridos capsulares de *N.* 15 *meningitidis* se conjuga con la proteína vehículo mediante un enlazante, por ejemplo un enlazante bifuncional. El enlazante es opcionalmente heterobifuncional u homobifuncional, teniendo por ejemplo un grupo amina reactivo y un grupo ácido carboxílico reactivo, 2 grupos amina reactivos o 2 grupos ácido carboxílico reactivos. El enlazante tiene por ejemplo entre 4 y 20, 20 4 y 12, 5 y 10 átomos de carbono. Un posible enlazante es ADH.

En una realización, se conjuga MenA; MenC; o MenA y MenC con una proteína vehículo (por ejemplo toxoide tetánico) mediante un enlazante.

En una realización, al menos un polisacárido de *N. meningitidis* se 25 conjuga con una proteína vehículo mediante un enlazante usando CDAP y EDAC. Por ejemplo, se conjugan MenA; MenC; o MenA y MenC con una

proteína mediante un enlazante (por ejemplo aquellos con dos grupos hidrozino en sus extremos tales como ADH) usando CDAP y EDAC como se ha descrito anteriormente. Por ejemplo, se usa CDAP para conjugar el sacárido con un enlazante y se usa EDAC para conjugar el enlazante con una proteína.

- 5 Preferiblemente, la conjugación mediante un enlazante provoca una proporción de polisacárido a proteína vehículo entre 1:0,5 y 1:6; 1:1 y 1:5 ó 1:2 y 1:4, para MenA; MenC; o MenA y MenC.

En una realización, el polisacárido capsular MenA, cuando está presente está al menos parcialmente O-acetilado tal como al menos el 50%, 60%, 70%,
10 80%, 90%, 95% o 98% de las unidades repetidas están O-acetiladas en al menos una posición. La O-acetilación está presente por ejemplo al menos en la posición O-3 de al menos el 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de las unidades repetidas.

En una realización, el polisacárido capsular MenC, cuando está presente
15 está al menos parcialmente O-acetilado tal como al menos el 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de las unidades repetidas NeuNAc unidas- ($\alpha 2 \rightarrow 9$) están O-acetiladas en al menos una o dos posiciones. La O-acetilación está presente por ejemplo en la posición O-7 y/u O-8 de al menos el 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de las unidades repetidas.

20 En una realización, el polisacárido capsular MenW, cuando está presente está al menos parcialmente O-acetilado tal como al menos el 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de las unidades repetidas están O-acetiladas en al menos una o dos posiciones. La O-acetilación está presente por ejemplo en la posición O-7 y/u O-9 de al menos el 30%, 40%, 50%, 60%,
25 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de las unidades repetidas.

En una realización, el polisacárido capsular MenY, cuando está presente está al menos parcialmente O-acetilado tal como al menos el 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de las unidades repetidas están O-acetiladas en al menos una o dos posiciones. La O-acetilación está presente en la posición 7 y/o 9 de al menos el 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de las unidades repetidas.

El porcentaje de O-acetilación se refiere al porcentaje de las unidades repetidas que contienen O-acetilación. Esto puede medirse en el polisacárido antes de la conjugación y/o después de la conjugación.

En una realización adicional, la composición inmunogénica de la invención comprende un conjugado de sacárido de Hib y al menos dos conjugados de polisacárido de *N. meningitidis* donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido inferior a la dosis de sacárido media de los al menos dos conjugados de polisacárido de *N. meningitidis*. Como alternativa, el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido inferior a la dosis de sacárido de cada uno de los al menos dos conjugados de polisacárido de *N. meningitidis*. Por ejemplo, la dosis del conjugado de Hib puede ser al menos el 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% o 80% inferior a la dosis de sacárido media o la dosis de sacárido más baja de los al menos dos conjugados de polisacárido de *N. meningitidis* adicionales.

El término "sacárido" incluye polisacáridos u oligosacáridos. Los polisacáridos se aíslan de bacterias o se aíslan de bacterias y se ajusta su tamaño a algún grado por procedimientos conocidos (véanse, por ejemplo, los documentos EP497524 y EP497525) y preferiblemente por microfluidización. Puede ajustarse el tamaño de los polisacáridos para reducir la viscosidad en

las muestras de polisacárido y/o para mejorar la capacidad de filtración para productos conjugados. Los oligosacáridos se caracterizan por ser típicamente polisacáridos hidrolizados con un número bajo de unidades repetidas (típicamente 5-30 unidades repetidas).

- 5 La dosis media se determina sumando las dosis de todos los polisacáridos adicionales y dividiendo por el número de polisacáridos adicionales. Los polisacáridos adicionales son todos los polisacáridos en la composición inmunogénica aparte de Hib y pueden incluir polisacáridos capsulares de *N. meningitidis*. La "dosis" es la cantidad de composición
10 inmunogénica o vacuna que se administra a un ser humano.

Un sacárido de Hib es el polisacárido capsular polirribosilfosfato (PRP) de *Haemophilus influenzae* tipo b o un oligosacárido derivado del mismo.

- 'Al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales' debe entenderse que significa al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos
15 adicionales además de un conjugado de Hib. Los al menos dos conjugados bacterianos adicionales pueden incluir conjugados de polisacárido capsular de *N. meningitidis*.

- Las composiciones inmunogénicas de la invención pueden comprender conjugados de sacáridos adicionales derivados de uno o más de *Neisseria*
20 *meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, Estreptococos del Grupo A, Estreptococos del Grupo B, *S. typhi*, *Staphylococcus aureus* o *Staphylococcus epidermidis*. En una realización preferida, la composición inmunogénica comprende polisacáridos capsulares u oligosacáridos derivados de uno o más de los serogrupos A, C, W135 e Y de *Neisseria meningitidis*. Una realización
25 preferida adicional comprende oligosacáridos o polisacáridos capsulares

derivados de *Streptococcus pneumoniae*. Los antígenos de oligosacáridos o polisacáridos capsulares de neumococos preferiblemente se seleccionan entre los serotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F (mucho más preferiblemente de los serotipos 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F). Una realización preferida adicional comprende oligosacáridos o polisacáridos capsulares del Tipo 5, Tipo 8 ó 336 de *Staphylococcus aureus*. Una realización preferida adicional comprende los polisacáridos capsulares de Tipo I, Tipo II o Tipo III de *Staphylococcus epidermidis*. Una realización preferida adicional comprende el sacárido Vi (poli u oligosacárido) de *S. typhi*. Una realización preferida adicional comprende los oligosacáridos o polisacáridos capsulares de Tipo Ia, Tipo Ic, Tipo II, Tipo III o Tipo V de estreptococos del Grupo B. Una realización preferida adicional comprende los oligosacáridos o polisacáridos capsulares de estreptococos del Grupo A, comprendiendo preferiblemente también al menos una proteína M y más preferiblemente múltiples tipos de proteína M.

En una realización, la composición inmunogénica de la invención contiene cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* a una dosis entre 0,1-20 µg; 1-10 µg; 2-10 µg, 2,5-5 µg, alrededor de o exactamente 5 µg; o alrededor de o exactamente 2,5 µg.

En una realización, la composición inmunogénica de la invención contiene por ejemplo el conjugado de sacárido de Hib a una dosis de sacárido entre 0,1 y 9 µg; 1 y 5 µg o 2 y 3 µg o alrededor de o exactamente 2,5 µg y cada uno de los conjugados de polisacárido de *N. meningitidis* a una dosis de sacárido entre 2 y 20 µg, 3 y 10 µg, o entre 4 y 7 µg o alrededor de o exactamente 5 µg.

“Alrededor de” o “aproximadamente” se definen como en el 10% más o menos de la cantidad dada para los propósitos de la invención.

En una realización, la composición inmunogénica de la invención contiene una dosis de sacárido del conjugado de sacárido de Hib que es por ejemplo de menos del 90%, 80%, 75%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% o 10% de la dosis de sacárido media de al menos dos, tres o cuatro o cada conjugado de polisacárido de *N. meningitidis*. La dosis de sacárido del sacárido de Hib es por ejemplo entre el 20% y el 60%, el 30% y el 60%, el 40% y el 60% o alrededor de o exactamente el 50% de la dosis de sacárido media de al menos dos, tres o cuatro o cada conjugado de polisacárido de *N. meningitidis*.

En una realización, la composición inmunogénica de la invención contiene una dosis de sacárido del conjugado de sacárido de Hib que es por ejemplo menos del 90%, 80%, 75%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% o 10% de la dosis de sacárido más baja de los al menos dos, tres o cuatro o cada conjugado de polisacárido de *N. meningitidis*. La dosis de sacárido del sacárido de Hib es por ejemplo entre el 20% y el 60%, el 30% y el 60%, el 40% y el 60% o alrededor de o exactamente el 50% de la dosis de sacárido más baja de los al menos dos, tres, cuatro o cada conjugado de polisacárido de *N. meningitidis*.

En una realización de la invención, la dosis de sacárido de cada uno de los al menos dos, tres o cuatro o cada conjugado de polisacárido de *N. meningitidis* es opcionalmente igual, o aproximadamente igual.

Ejemplos de composiciones inmunogénicas de la invención son composiciones que constan de o comprenden:

Conjugado de Hib y conjugado de MenA y conjugado de MenC, opcionalmente a proporciones de dosis de sacárido de 1:2:2, 1:2:1, 1:4:2, 1:6:3,

1:3:3, 1:4:4, 1:5:5, 1:6:6 (p/p). Opcionalmente, la dosis de sacárido de MenA es superior a la dosis de sacárido de MenC.

Conjugado de Hib y conjugado de MenC y conjugado de MenY, opcionalmente a proporciones de dosis de sacárido de 1:2:2, 1:2:1, 1:4:2, 1:4:1, 1:8:4, 1:6:3, 1:3:3, 1:4:4, 1:5:5, 1:6:6 (p/p). Opcionalmente, la dosis de sacárido de MenC es superior a la dosis de sacárido de MenY.

Conjugado de Hib y conjugado de MenC y conjugado de MenW, opcionalmente a proporciones de dosis de sacárido de 1:2:2, 1:2:1, 1:4:2, 1:4:1, 1:8:4, 1:6:3, 1:3:3, 1:4:4, 1:5:5, 1:6:6 (p/p). Opcionalmente la dosis de sacárido de MenC es superior a la dosis de sacárido de MenW.

Conjugado de Hib y conjugado de MenA y conjugado de MenW, opcionalmente a proporciones de dosis de sacárido de 1:2:2, 1:2:1, 1:4:2, 1:4:1, 1:8:4, 1:6:3, 1:3:3, 1:4:4, 1:5:5, 1:6:6 (p/p). Opcionalmente, la dosis de sacárido de MenA es superior a la dosis de sacárido de MenW.

Conjugado de Hib y conjugado de MenA y conjugado de MenY, opcionalmente a proporciones de dosis de sacárido de 1:2:2, 1:2:1, 1:4:2, 1:4:1, 1:8:4, 1:6:3, 1:3:3, 1:4:4, 1:5:5, 1:6:6 (p/p). Opcionalmente la dosis de sacárido de MenA es superior a la dosis de sacárido de MenY.

Conjugado de Hib y conjugado de MenW y conjugado de MenY, opcionalmente a proporciones de dosis de sacárido de 1:2:2, 1:2:1, 1:1:2, 1:4:2, 1:2:4, 1:4:1, 1:1:4, 1:3:6, 1:1:3, 1:6:3, 1:3:3, 1:4:4, 1:5:5, 1:6:6 (p/p). Opcionalmente la dosis de sacárido de MenY es superior a la dosis de sacárido de MenW.

MenA, MenC, MenW y MenY a proporciones de dosis de sacárido de 1:1:1:1 o 2:1:1:1 o 1:2:1:1 o 2:2:1:1 o 1:3:1:1 o 1:4:1:1 (p/p).

Un aspecto adicional de la invención es una vacuna que comprende la composición inmunogénica de la invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la composición inmunogénica de la invención está
5 tamponada a, o ajustada a, entre pH 7,0 y 8,0, pH 7,2 y 7,6 o alrededor de o exactamente pH 7,4.

La composición inmunogénica o vacunas de la invención opcionalmente se liofilizan en presencia de un agente estabilizador por ejemplo un poliol tal como sacarosa o trehalosa.

10 Opcionalmente, la composición inmunogénica o vacuna de la invención contiene una cantidad de un adyuvante suficiente para potenciar la respuesta inmune frente al inmunógeno. Los adyuvantes adecuados incluyen, aunque sin limitación, sales de aluminio (fosfato de aluminio o hidróxido de aluminio), mezclas de escualeno, (SAF-1), muramil péptido, derivados de saponina,
15 preparaciones de la pared celular de micobacteria, monofosforil lípido A, derivados de ácido micólico, tensioactivos de copolímeros de bloque no iónicos, Quil A, subunidad B de la toxina del cólera, polifosfazeno y derivados, y complejos inmunoestimuladores (ISCOM) tales como los descritos por Takahashi y col. (1990) Nature 344: 873-875.

20 Para las combinaciones de *N. meningitidis* o HibMen analizadas anteriormente, puede ser ventajoso no usar ningún adyuvante de sal de aluminio o ningún adyuvante en absoluto.

Como con todas las composiciones inmunogénicas o vacunas, las cantidades inmunológicamente eficaces de los inmunógenos deben
25 determinarse empíricamente. Los factores a considerar incluyen la

inmunogenicidad, vaya o no a formar complejos o unirse covalentemente el inmunógeno con un adyuvante o proteína vehículo u otro vehículo, vías de administración y la cantidad de dosificaciones inmunizantes a administrar. Dichos factores son conocidos en la técnica de vacunas y pertenece a la experiencia habitual de los inmunólogos hacer dichas determinaciones sin experimentación excesiva.

El agente activo puede estar presente en concentraciones variables en la composición farmacéutica o vacuna de la invención. Típicamente, la concentración mínima de la sustancia es una cantidad necesaria para conseguir su uso pretendido, mientras que la concentración máxima es la cantidad máxima que se mantendrá en solución o suspendida homogéneamente en la mezcla inicial. Por ejemplo, la cantidad mínima de un agente terapéutico es preferiblemente una que proporcionará una única dosificación terapéuticamente eficaz. Para sustancias bioactivas, la concentración mínima es una cantidad necesaria para la bioactividad después de la reconstitución y la concentración máxima está en el punto en el que una suspensión homogénea no puede mantenerse. En el caso de unidades de dosis única, la cantidad es la de una única aplicación terapéutica. Generalmente, se espera que cada dosis comprenda 1-100 μg de antígeno proteico, preferiblemente 5-50 μg y más preferiblemente 5-25 μg . Dosis preferidas de sacáridos bacterianos son 10-20 μg , 5-10 μg , 2,5-5 μg o 1-2,5 μg . La cantidad preferida de la sustancia varía de una sustancia a otra pero se puede determinar fácilmente por un especialista en la técnica.

Las preparaciones de vacuna de la presente invención pueden usarse para proteger o tratar un mamífero (por ejemplo un paciente humano)

susceptible a infección, por medio de la administración de dicha vacuna mediante una vía sistémica o mucosa. Un paciente humano opcionalmente es un bebé (por debajo de 12 meses), un niño en edad de empezar a caminar (12-24, 12-16 ó 12-14 meses), un niño (2-10, 3-8 ó 3-5 años), un adolescente (12-25, 14-21 ó 15-19 años) o un adulto (cualquier edad por encima de 12, 15, 18 ó 21). Estas administraciones pueden incluir inyección por vía intramuscular, intraperitoneal, intradérmica o subcutánea; o por administración a través de la mucosa a los tractos oral/alimentario, respiratorio, genitourinario. Se prefiere la administración intranasal de vacunas para el tratamiento de neumonía u otitis media (ya que el paso nasofaríngeo de los neumococos puede evitarse más eficazmente, atenuando de este modo la infección en su fase más temprana). Aunque la vacuna de la invención puede administrarse en forma de una dosis única, también pueden co-administrarse los componentes de la misma juntos en el mismo momento o en diferentes momentos (por ejemplo, si los sacáridos están presentes en una vacuna estos podrían administrarse por separado en el mismo momento o 1-2 semanas después de la administración de la vacuna de proteína bacteriana para una coordinación óptima de las respuestas inmunes con respecto a cada uno). Además de una única vía de administración, pueden usarse 2 diferentes vías de administración. Por ejemplo, pueden administrarse antígenos virales ID (intradérmico), mientras que pueden administrarse proteínas bacterianas IM (intramuscular) o IN (intranasal). Si están presentes sacáridos, estos pueden administrarse IM (o ID) y las proteínas bacterianas pueden administrarse IN (o ID). Además, las vacunas de la invención pueden administrarse IM para dosis de inmunización e IN para dosis de refuerzo.

La preparación de vacuna se describe en líneas generales en Vaccine Design ("The subunit and adjuvant approach" (eds Powell M.F. & Newman M.J.) (1995) Plenum Press New York). La encapsulación en liposomas se describe por Fullerton, Patente de Estados Unidos 4.235.877.

- 5 Un aspecto adicional de la invención es un kit de vacuna para la administración concomitante o secuencial que comprende dos composiciones inmunogénicas multivalentes para proporcionar protección en un hospedera contra enfermedad causada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae* y *Neisseria meningitidis* y opcionalmente
- 10 *Haemophilus influenzae*. Por ejemplo, el kit comprende opcionalmente un primer recipiente que comprende uno o más de:
- toxoides tetánico (TT),
 - toxoides diftérico (DT), y
 - componentes de células enteras o componentes acelulares de pertussis
- 15 y un segundo recipiente que comprende:
- polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno, dos, tres o cuatro de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo, donde el tamaño medio de cada polisacárido de *N. meningitidis* es superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa o 130 kDa, opcionalmente
 - 20 liofilizado,
 - o
 - conjugado de sacárido de Hib, y
 - polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno, dos, tres o cuatro de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo,
 - 25 donde el tamaño medio de cada polisacárido de *N. meningitidis* es superior a

50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa o 130 kDa, opcionalmente liofilizado.

Ejemplos de formulación del conjugado de Hib y los conjugados de polisacárido de *N. meningitidis* son como se han descrito anteriormente.

5 Un aspecto adicional de la invención es un kit de vacuna para la administración concomitante o secuencial que comprende dos composiciones inmunogénicas multivalentes para proporcionar protección en un hospedera contra enfermedad causada por *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis* y opcionalmente *Haemophilus influenzae*. Por ejemplo, el kit
10 comprende opcionalmente un primer recipiente que comprende:

uno o más conjugados de una proteína vehículo y un sacárido capsular de *Streptococcus pneumoniae* [donde el sacárido capsular preferiblemente es de un serotipo de neumococos seleccionado entre el grupo constituido por 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20,
15 22F, 23F y 33F].

y un segundo recipiente que comprende:

polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno, dos, tres o cuatro de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo, donde el tamaño medio de cada polisacárido de *N. meningitidis* es superior a
20 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa o 130 kDa, opcionalmente liofilizado,

o

conjugado de sacárido de Hib, y

polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno, dos, tres o
25 cuatro de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo,

donde el tamaño medio de cada polisacárido de *N. meningitidis* es superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa o 130 kDa, opcionalmente liofilizado.

Los ejemplos del conjugado de Hib y los conjugados de polisacárido de *N. meningitidis* son como se ha descrito anteriormente.

Típicamente, la vacuna de *Streptococcus pneumoniae* en el kit de vacuna de la presente invención comprenderá antígenos sacáridos (preferiblemente conjugados), donde los polisacáridos se obtienen de al menos cuatro serotipos de neumococos elegidos entre el grupo constituido por 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F. Preferiblemente, los cuatro serotipos incluyen 6B, 14, 19F y 23F. Más preferiblemente, se incluyen al menos 7 serotipos en la composición, por ejemplo los obtenidos de los serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, y 23F. Más preferiblemente aún se incluyen más de 7 serotipos en la composición, por ejemplo al menos 10, 11, 12, 13 o 14 serotipos. Por ejemplo, la composición en una realización incluye 11 polisacáridos capsulares obtenidos de los serotipos 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F (preferiblemente conjugados). En una realización preferida de la invención se incluyen al menos 13 antígenos polisacáridos (preferiblemente conjugados), aunque también se contemplan antígenos polisacáridos adicionales, por ejemplo 23 valentes (tales como los serotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F), por la invención.

Los sacáridos de neumococos se conjugan independientemente a cualquier proteína vehículo conocida, por ejemplo CRM197, toxoide tetánico,

toxoide diftérico, proteína D y cualquier otra proteína vehículo mencionada anteriormente.

Opcionalmente, los kits de vacuna de la invención comprenden un tercer componente. Por ejemplo, el kit comprende opcionalmente un primer recipiente

5 que comprende uno o más de:

toxoide tetánico (TT),

toxoide diftérico (DT), y

componentes de pertussis de toda la célula o acelulares

y un segundo recipiente que comprende:

10 uno o más conjugados de una proteína vehículo y un sacárido capsular de *Streptococcus pneumoniae* [donde el sacárido capsular es preferiblemente de un serotipo de neumococos seleccionado entre el grupo constituido por 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F].

15 y un tercer recipiente que contiene:

polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno, dos, tres o cuatro de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo, donde el tamaño medio de cada polisacárido de *N. meningitidis* es superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa o 130 kDa, opcionalmente

20 liofilizado,

o

conjugado de sacárido de Hib, y

polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno, dos, tres o cuatro de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo,

25 donde el tamaño medio de cada polisacárido de *N. meningitidis* es superior a

50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa o 130 kDa, opcionalmente liofilizado.

Las composiciones inmunogénicas que comprenden conjugados de meningococos, por ejemplo HibMenC, HibMenAC, HibMenAW, HibMenAY, HibMenCW, HibMenCY, HibMenWY, MenAC, MenAW, MenAY, MenCW, MenCY, MenWY o MenACWY, incluyendo kits de composición similar a los descritos anteriormente, comprenden opcionalmente antígenos del sarampión y/o paperas y/o rubéola y/o varicela. Por ejemplo, la composición inmunogénica de meningococos contiene antígenos del sarampión, paperas y rubéola o sarampión, paperas, rubéola y varicela. En una realización, estos antígenos virales están opcionalmente presentes en el mismo recipiente que el conjugado o conjugados de sacárido de Hib y/o meningococos. En una realización, estos antígenos virales están liofilizados.

Un aspecto adicional de la invención es un procedimiento para preparar la composición inmunogénica de la invención, comprendiendo la etapa de mezclar polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno, dos, o tres de los serogrupos A, C, W e Y conjugados con una proteína vehículo, con un conjugado sacárido bacteriano, donde el tamaño medio de cada polisacárido de *N. meningitidis* es superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa o 130 kDa.

La preparación de vacuna se describe en líneas generales en Vaccine Design ("The subunit and adjuvant approach" (eds Powell M.F. & Newman M.J.) (1995) Plenum Press New York). La encapsulación en liposomas se describe por Fullerton, Patente de Estados Unidos 4.235.877.

H

Un aspecto adicional de la invención es un procedimiento para inmunizar un hospedera humano contra enfermedad causada por *N. meningitidis* y opcionalmente infección por *Haemophilus influenzae* que comprende administrar al hospedera una dosis inmunoprotectora de la composición
 5 inmunogénica o vacuna o kit de la invención.

Un aspecto adicional de la invención es una composición inmunogénica de la invención para su uso en el tratamiento o prevención de enfermedad causada por *N. meningitidis* y opcionalmente infección por *Haemophilus influenzae*.

10 Un aspecto adicional de la invención es el uso de la composición inmunogénica o vacuna o kit de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedades causadas por *N. meningitidis* y opcionalmente infección por *Haemophilus influenzae*.

Los términos “que comprende” y “comprende” en este documento se
 15 entiende que son opcionalmente sustituibles con las expresiones “constituido por” y “consta de”, respectivamente, en todos los casos.

Todas las referencias o solicitudes de patente citadas en esta memoria descriptiva de patente se incorporan como referencia en este documento.

La invención se ilustra en los ejemplos adjuntos. Los siguientes ejemplos
 20 se realizan usando técnicas convencionales, que son bien conocidas y de rutina para los especialistas en la técnica, excepto cuando se describen de otro modo con detalle. Los ejemplos son ilustrativos, pero no limitan la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1 - preparación de conjugados de polisacárido

La unión covalente del polisacárido PRP de *Haemophilus influenzae* (Hib) a TT se realizó por química de acoplamiento desarrollada por Chu y col (Infection and Immunity 1983, 40 (1); 245-256). Se activó el polisacárido PRP de Hib añadiendo CNBr e incubando a pH 10,5 durante 6 minutos. El pH se
5 disminuyó hasta pH 8,75 y se añadió dihidrazida del ácido adípico (ADH) y se continuó la incubación durante 90 minutos adicionales. El PRP activado se acopló a toxoide tetánico purificado por condensación con carbodiimida usando 1-etil-3-(3-dimetil-aminopropil)carbodiimida (EDAC). Se añadió EDAC al PRP
10 activado para alcanzar una proporción final de 0,6 mg de EDAC/mg de PRP activado. El pH se ajustó a 5,0 y se añadió toxoide tetánico purificado para alcanzar 2 mg de TT/mg de PRP activado. La solución resultante se dejó durante tres días con agitación suave. Después de filtración a través de una membrana de 0,45 µm, se purificó el conjugado en una columna de sephacryl S500HR (Pharmacia, Suecia) equilibrada en NaCl 0,2 M.

15 Se produjeron conjugados MenA y MenC-TT usando polisacáridos nativos (de unos 150 kDa para MenC nativo y unos 60 kDa para MenA medido por el procedimiento de MALLS del ejemplo 2) mientras que se produjeron conjugados de MenW y MenY-TT usando polisacáridos con el tamaño ajustado de alrededor de 100-200 kDa medido por MALLS (véase ejemplo 2). El ajuste
20 del tamaño se hizo por microfluidización usando un aparato homogeneizador Emulsiflex C-50.

Se realizó la activación y el acoplamiento como se describe en los documentos WO96/29094 y WO 00/56360. En resumen, el polisacárido a una concentración de 10-20 mg/ml en NaCl 2 M pH 6,0 se mezcló con solución de
25 CDAP (100 mg/ml recién preparada en acetonitrilo/WFI, 50/50) a una

proporción final de CDAP/polisacárido de 1,5/1. Después de 1,5 minutos, se elevó el pH con hidróxido sódico a pH 10,0. Después de tres minutos se añadió toxoide tetánico para alcanzar una proporción de proteína/polisacárido de 1,5/1 para MenW, 1,5/1 para MenY, 1,5/1 para MenA o 1,2/1 para MenC. La reacción
5 continuó durante una a dos horas.

Después de la etapa de acoplamiento, se añadió glicina a una proporción final de glicina/PS (p/p) de 7,5/1 y se ajustó el pH a pH 9,0. La mezcla se dejó durante 30 minutos. El conjugado se aclaró usando un filtro Kleenpak de 10 μ m y después se cargó en una columna de Sephacryl S400HR
10 usando un tampón de elución de NaCl 150 mM, Tris 10 mM o 5 mM pH 7,5. Se filtraron lotes clínicos en una membrana de esterilización Opticap 4.

Para conjugar el polisacárido capsular MenA con toxoide tetánico por un espaciador, se usó el siguiente procedimiento. La unión covalente del polisacárido y el espaciador (ADH) se realizó por química de acoplamiento por
15 la que el polisacárido se activa en condiciones controladas por un agente de cianilación, tetrafluoroborato de 1-ciano-4-dimetilamino-piridinio (CDAP). El espaciador reacciona con el PS cianilado a través de sus grupos hidrazino, para formar un enlace isourea estable entre el espaciador y el polisacárido.

Se trató una solución de 10 mg/ml de MenA con una solución recién
20 preparada de 100 mg/ml de CDAP en acetonitrilo/agua (50/50 (v/v)) para obtener una proporción de CDAP/MenA de 0,75 (p/p). Después de 1,5 minutos, se elevó el pH a pH 10,0. Tres minutos después, se añadió ADH para obtener una proporción de ADH/MenA de 8,9. El pH de la solución se disminuyó hasta 8,75 y la reacción transcurrió durante 2 horas.

Antes de la reacción de conjugación, la solución de TT purificada y la solución de PSA_{AH} se diluyeron hasta alcanzar una concentración de 10 mg/ml para PSA_{AH} y 20 mg/ml para TT.

Se añadió EDAC a la solución de PSA_{AH} para alcanzar una proporción final de 0,9 mg de EDAC/mg de PSA_{AH}. El pH se ajustó a 5,0. El toxoide tetánico purificado se añadió con una bomba peristáltica (en 60 minutos) para alcanzar 2 mg de TT/mg de PSA_{AH}. La solución resultante se dejó 60 minutos a +25°C en agitación para obtener un tiempo de acoplamiento final de 120 minutos. El conjugado se aclaró usando un filtro de 10 µm y se purificó usando una columna de Sephacryl S400HR.

Ejemplo 2 - determinación del peso molecular usando MALLS

Se acoplaron detectores a una columna de exclusión por tamaño de HPLC de la que se eluyeron las muestras. Por un lado, el detector de dispersión de luz láser midió las intensidades de luz dispersadas en 16 ángulos por la solución macromolecular y por otro lado, un refractómetro interferométrico colocado en línea permitió la determinación de la cantidad de muestra eluida. A partir de estas intensidades, puede determinarse el tamaño y forma de las macromoléculas en solución.

El peso molecular medio en peso (M_w) se define como la suma de los pesos de todas las especies multiplicado por sus pesos moleculares respectivos y dividido por la suma de los pesos de todas las especies.

a) Peso molecular medio en peso: - M_w -

$$M_w = \frac{\sum W_i \cdot M_i}{\sum W_i} = \frac{m_2}{m_1}$$

b) Peso molecular medio en número: - M_n -

$$M_n = \frac{\sum N_i \cdot M_i}{\sum N_i} = \frac{m_1}{m_0}$$

c) Raíz del radio cuadrático medio: $-R_w-$ y R^2_w es el radio al cuadrado definido por:

$$R^2_w \text{ o } (r^2)_w = \frac{\sum m_i \cdot r_i^2}{\sum m_i}$$

5 $(-m_i-$ es la masa del centro i de dispersión y $-r_i-$ es la distancia entre el centro i de dispersión y el centro de gravedad de la macromolécula).

d) La polidispersidad se define como la proporción $-M_w / M_n-$.

Se analizaron los polisacáridos de meningococos por MALLS cargándolos en dos columnas de HPLC (TSKG6000 y 5000PWxl) usadas en
10 combinación. Se cargaron 25 μ l del polisacárido en la columna y se eluyó con 0,75 ml de agua filtrada. Los polisacáridos se detectaron usando un detector de dispersión de luz (Wyatt Dawn DSP equipado con un láser de argón de 10 mW a 488 nm) y un refractómetro interferométrico (Wyatt Otilab DSP equipado con una célula P100 y un filtro en el rojo a 498 nm).

15 Las polidispersidades y recuperaciones del peso molecular de todas las muestras se calcularon por el procedimiento de Debye usando un ajuste polinómico de orden de 1 en el software Astra 4.72.

Ejemplo 3 - ensayo clínico que compara la inmunización con Meningitec o un conjugado de MenC de tamaño mayor-TT

20 Se realizó un estudio controlado, abierto, en fase II para comparar la vacuna conjugada del serogrupo C de meningococos de GSK Biologicals (MenC) con la vacuna conjugada del serogrupo C de meningococos de *Haemophilus influenzae* b de GSK Biologicals (Hib-MenC) o Meningitec ®.

Cada dosis de Meningitec® contiene 10 µg de oligosacárido de serogrupo C de meningococos conjugado con 15 µg de CRM 197 y está producido por Wyeth. Los conjugados MenC de GSK contenían polisacáridos nativos de aproximadamente 200 kDa conjugados con toxoide tetánico (TT).

5 El estudio constaba de cinco grupos, cada uno programado para que contuviera 100 sujetos, asignados en dos brazos paralelos del siguiente modo:

En el presente estudio, todos los sujetos en ambos brazos recibieron una quinta parte (1/5) de una dosis de Mencevax™ ACWY y una dosis concomitante de Infanrix™ hexa a los 12-15 meses de edad (Mes de Estudio 10 0). Se recogieron dos muestras sanguíneas de todos los sujetos (Mes de Estudio 0 y Mes de Estudio 1). El brazo 1 constaba de cuatro grupos de un estudio de vacunación primaria que se inmunizaron a la edad de 3, 4 y 5 meses con las siguientes vacunas:

- Grupo K: MenC (10 µg), no adsorbido sobre sales de aluminio (no-ads), conjugado de toxoide tetánico (TT) e Infanrix™ hexa (MenC10-TT + Infanrix™ hexa)
- Grupo L: Hib (10 µg)-MenC (10 µg), no-ads, conjugado TT e Infanrix™ penta (Hib10-MenC10-TT + Infanrix™ penta)
- Grupo M: Hib (5 µg)-MenC (5 µg), no-ads, conjugado TT e Infanrix™ penta (Hib5-MenC5-TT + Infanrix™ penta)
- Grupo N: Meningitec™ e Infanrix™ hexa (Meningitec™ + Infanrix™ hexa)

Los dos grupos de vacuna de Hib-MenC-TT (Grupos L y M) se mantuvieron ciegos en el estudio de refuerzo como para la formulación exacta 25 de la vacuna candidata.

El brazo 2 (Grupo O) constaba de sujetos de edad coincidente no vacunados previamente con una vacuna del serogrupo C de meningococos (vírgenes) pero que habían recibido vacunas pediátricas de rutina de acuerdo con la German Permanent Commission on Immunization.

5 Criterios de evaluación:

Inmunogenicidad: Determinación de títulos de anticuerpos bactericidas contra meningococos C (SBA-MenC) por un ensayo bactericida (límite: una dilución de 1:8) y medida por ELISA de anticuerpos contra el serogrupo C de meningococos (límite del ensayo: 0,3 µg/ml), el polisacárido PRP de Hib (límite del ensayo: 0,15 µg/ml) y toxoide tetánico (límite del ensayo: 0,1 IU/ml) en muestras sanguíneas obtenidas antes de la vacunación y aproximadamente un mes después de la vacunación en todos los sujetos.

Procedimientos estadísticos:

Demográfica: Determinación de la edad media en meses (con media, intervalo y desviación típica [SD]), y composición racial y de género de las cohortes vacunadas ATP y Total.

Inmunogenicidad:

Se realizaron dos análisis de inmunogenicidad en base a la cohorte ATP para inmunogenicidad (para análisis de memoria inmune y respuesta de refuerzo) o la cohorte ATP para seguridad (para análisis de persistencia). Estos incluyeron:

Evaluación de la memoria inmune para MenC y respuesta de refuerzo para Hib y Tétanos (antes y un mes después de la administración de 1/5 de la dosis de la vacuna de polisacáridos sencilla):

- Determinación de la media geométrica de los títulos y concentraciones (GMT y GMC) con intervalos de confianza del 95% (95% CI)
 - Determinación del porcentaje de sujetos con título /concentración de anticuerpo por encima de los límites propuestos con 95% CI exacto
- 5 (proporciones de seropositividad/seroprotección)
- Investigación de los títulos /concentración de anticuerpo después de la vacunación usando curvas de acumulación inversa
 - Cálculo del 95% CI asintótico normalizado para la diferencia en la proporción de seropositividad/seroprotección
- 10
- entre el grupo inmunizado (Grupos K, L, M y N) y el grupo no inmunizado (Grupo O)
 - Determinación de la media geométrica de la proporción individual del título SBA-MenC sobre la concentración de anticuerpo anti-PSC, con 95% CI
 - Determinación del 95% CI para la proporción GMT/C después de la
- 15 vacunación entre los grupos K, L, M y el grupo de control N para anticuerpos anti-PRP y anti-tétanos y entre cada grupo inmunizado (Grupos K, L, M y N) y el grupo no inmunizado (Grupo O) para SBA-MenC y anticuerpo anti-PSC usando un modelo ANOVA

Resultados

20 Tabla 1. Títulos de SBA-MenC y concentración de anticuerpo anti-PSC después de la vacunación de refuerzo

Anticuerpo	Grupo	N	GMT/C	95% CL LL	95% CL UL
SBA-MenC	K-MenC-TT	71	3508,9	2580,1	4772,2
	L-HibMenC	79	2530,1	1831,7	3494,7
	M-HibMenC	81	5385,4	4425,0	6554,2

	N-Meningitec	85	1552,6	1044,4	2307,9
	O-Control	91	9,3	6,3	13,6
Anti-PSC	K-MenC-TT	70	28,10	22,59	34,95
	L-HibMenC	71	30,01	24,09	37,38
	M-HibMenC	76	34,58	29,10	41,09
	N-Meningitec	78	16,59	12,98	21,21
	O-Control	94	3,05	2,36	3,93

Grupo K: sujetos inmunizados con MenC10-TT + Infanrix. hexa; Grupo L: sujetos inmunizados con Hib10-MenC10-TT + Infanrix. penta; Grupo M: sujetos inmunizados con Hib5-MenC5-TT + Infanrix. penta; Grupo N: sujetos
5 inmunizados con Meningitec. + Infanrix. hexa; Grupo O: sujetos de control (es decir, sujetos no preparados, con vacuna conjugada de MenC)

N: número de sujetos con resultados disponibles

Se consiguieron títulos superiores de anticuerpos contra MenC y títulos de SBA superiores inmunizando con las vacunas conjugadas de polisacárido
10 MenC de tamaño mayor (Grupos K, L y M) en comparación con la vacuna conjugada de oligosacárido Meningitec.

Tabla 2: Proporción de la media geométrica para título SBA-MenC/concentración de anticuerpo anti-PSC

Grupo	Momento	N	GMR	LL	UL
K	Anterior	70	49,470	34,939	70,044
	Posterior	66	126,138	101,419	156,882
L	Anterior	76	36,528	25,849	51,621
	Posterior	70	90,200	70,153	115,975

M	Anterior	77	51,298	36,478	72,139
	Posterior	74	164,950	139,304	195,318
N	Anterior	84	22,571	16,521	30,837
	Posterior	76	90,168	67,757	119,991
O	Anterior	3	91,634	0,651	12889,8
	Posterior	87	2,708	1,767	4,149

En los cuatro grupos inmunizados (Grupos K, L, M y N), la GMR aumentó significativamente de antes a después de la vacunación de refuerzo indicando la presencia de maduración de los anticuerpos y funcionalidad. GMR en el Grupo M (inmunizado con Hib5-MenC5-TT) fue superior a la del Grupo N (inmunizado con Meningitec™).

Tabla 3: Persistencia a los 12-15 meses de edad justo antes de la administración de las vacunas de refuerzo

Límites	Grupo	N	%	Grupo	N	%	Diferencia	Valor%
SBAMenC ≥1:8	K	79	88,6	N	91	80,2	N-K	-8,4
	L	84	93,3	N	91	80,2	N-L	-3,1
	M	85	87,1	N	91	80,2	N-M	-6,8
SBAMenC ≥1:128	K	79	65,8	N	91	51,6	N-K	-14,2
	L	84	56,0	N	91	51,6	N-L	-4,3
	M	85	64,7	N	91	51,6	N-M	-13,1
Anti-PSC ≥0,3 µg/ml	K	79	100,0	N	91	100,0	N-K	0,0
	L	84	100,0	N	91	100,0	N-L	0,0
	M	88	98,9	N	91	100,0	N-M	1,1
Anti-PSC	K	79	72,2	N	91	81,3	N-K	9,2

104

≥ 2 µg/ml	L	84	64,3	N	91	81,3	N-L	17,0
	M	88	64,3	N	91	81,3	N-M	8,6
Anti-PRP	K	81	88,9	N	91	85,7	N-K	-3,2
$\geq 0,15$ µg/ml	L	86	96,5	N	91	85,7	N-L	-10,8
	M	90	98,9	N	91	85,7	N-M	-13,2
Anti-PRP	K	81	33,3	N	91	28,6	N-K	-4,8
≥ 1 µg/ml	L	86	55,8	N	91	28,6	N-L	-27,2
	M	90	74,4	N	91	28,6	N-M	-45,9
Anti-tétanos	K	81	100,0	N	91	96,7	N-K	-3,3
$\geq 0,1$ IU/ml	L	86	100,0	N	91	96,7	N-L	-3,3
	M	90	100,0	N	91	96,7	N-M	-3,3

Grupo K: sujetos inmunizados con MenC10-TT + Infanrix. hexa; Grupo L: sujetos inmunizados con Hib10-MenC10-TT + Infanrix. penta; Grupo M: sujetos inmunizados con Hib5-MenC5-TT + Infanrix. penta; Grupo N: sujetos
5 inmunizados con Meningitec. + Infanrix. hexa;
N: número de sujetos con resultados disponibles

Se consiguieron títulos SBA superiores contra MenC inmunizado con el mayor tamaño de MenC (grupos K, L y M) en comparación con la inmunización con el conjugado de oligosacárido MenC Meningitec.

10 **Memoria inmune (cohorte ATP para inmunogenicidad)**

La administración de 1/5 de la dosis de la vacuna ACWY de polisacáridos sencilla provocó un título SBA-MenC muy alto en los cuatro grupos inmunizados con el 98,7-100% y 97,5-100% de los sujetos inmunizados con un régimen de vacuna candidata mostrando títulos $\geq 1:8$ y $\geq 1:128$,

respectivamente. En el grupo inmunizado con el régimen Meningitec™, hubo una tendencia de porcentaje inferior de sujetos con títulos $\geq 1:128$ (91,8%). En comparación, el 17,6% de los sujetos no inmunizados tuvieron títulos SBA MenC $\geq 1:8$ y $\geq 1:128$.

5 Ejemplo 4. Ensayo clínico en fase II sobre la vacuna conjugada HibMenAC-TT mezclada con DTPw-HepB

Diseño del estudio: Estudio con 5 grupos de un único centro aleatorizado (1:1:1:1:1), abierto. Los cinco grupos recibieron el siguiente régimen de vacunación respectivamente, a las 6, 10 y 14 semanas de edad.

- 10
- Tritanrix.-HepB/Hib-MenAC 2,5 µg/2,5 µg/2,5 µg: mencionado a continuación como 2,5/2,5/2,5
 - Tritanrix.-HepB/Hib-MenAC 2,5 µg/5 µg/5 µg: mencionado a continuación como 2,5/5/5
 - Tritanrix.-HepB/Hib-MenAC 5 µg/5 µg/5 µg: mencionado a continuación
- 15 como 5/5/5
- Tritanrix.-HepB + Hiberix.: mencionado a continuación como Hiberix
 - Tritanrix.-HepB/Hiberix. + Meningitec.: mencionado a continuación como Meningitec

20 Se tomaron muestras sanguíneas en el momento de la primera dosis de vacuna (anterior) y un mes después de la tercera dosis de vacuna (después de la dosis 3).

Tritanrix es una vacuna DTPw comercializada por GlaxoSmithKline Biologicals S.A.

25 Se usaron 105 sujetos en cada uno de los cinco grupos dando un total de 525 sujetos en el estudio.

Tabla 4: Contenido de las formulaciones de vacuna GSK

Componentes por dosis (0,5 ml)	2,5/2,5/2,5*	2,5/5/5	5/5/5
Polisacárido capsular de Hib y PRP conjugado con toxoide tetánico (TT)	2,5 µg	2,5 µg	5 µg
Polisacárido capsular de <i>Neisseria meningitidis</i> A (PSA) conjugado con TT	2,5 µg	5 µg	5 µg
Polisacárido capsular de <i>Neisseria meningitidis</i> C (PSC) conjugado con TT	2,5 µg	5 µg	5 µg

* La vacuna 2,5/2,5/2,5 era una dilución de la dosis de la vacuna Hib-MenAC 5/5/5 de GSK Biologicals que contenía 2,5 µg de cada uno de PRP-TT, MenA-

5 TT y MenC-TT.

Las formulaciones de la vacuna Hib-MenAC se mezclaron de manera improvisada con Tritanrix-HepB. La vacuna combinada contra difteria-tétanos-toda la célula de Bordetella pertussis-hepatitis B (DTPw-HB) de GSK Biologicals (Tritanrix-HepB) contiene no menos de 30 Unidades Internacionales (IU) de toxoide diftérico, no menos de 60 IU de toxoide tetánico, no menos de 4 IU de Bordetella pertussis muerta y 10 µg de antígeno superficial de hepatitis B recombinante.

Terapia, dosis, modo de administración, N° de lote de referencia:

Programa/sitio de vacunación: Un grupo recibió vacuna Tritanrix.-HepB por vía intramuscular en el muslo izquierdo e Hiberix™ por vía intramuscular en el muslo derecho a las 6, 10 y 14 semanas de edad. Otro grupo recibió vacuna Tritanrix™-HepB/Hiberix™ por vía intramuscular en el muslo izquierdo y

vacuna Meningitec por vía intramuscular en el muslo derecho a las 6, 10 y 14 semanas de edad.

Vacuna/composición/dosis/número de lote: La vacuna Tritanrix™-HepB usada era como se ha descrito anteriormente.

5 Una dosis (0,5 ml) de la vacuna conjugada de *Haemophilus influenzae* de tipo b de GSK Biologicals: Hiberix™ contenía 10 µg de PRP conjugado con toxoide tetánico. En el Grupo de Hiberix™, se mezcló con diluyente estéril y en el Grupo Meningitec™ se mezcló con Tritanrix™-HepB.

10 Una dosis (0,5 ml) de vacuna MENINGITEC™ de Wyeth Lederle contenía: 10 µg de oligosacárido capsular de meningococos del grupo C conjugado con 15 µg de proteína CRM197 de *Corynebacterium diphtheria* y aluminio en forma de sales.

Resultados - respuestas inmunes generadas contra Hib, MenA y MenC

Tabla 5a: Anti-PRP (µg/ml)

Grupo	2,5/2,5/2,5	2,5/5/5	5/5/5	Hiberix™	Meningitec™
	% 95% CL GMC/T LL UL	% 95% CL GMC/T LL UL	% 95% CL GMC/T LL UL	% 95% CL GMC/T LL UL	% 95% CL GMC/T LL UL
%≥0,15	100 96,5 100	99,0 94,8 100	100 96,5 100	100 96,5 100	100 96,5 100
GMC	20,80 15,96 27,10	22,62 17,72 28,88	19,36 15,33 24,46	38,55 29,93 49,64	10,94 8,62 13,88

15 Tabla 5b: SBA -MenC

Grupo	2,5/2,5/2,5	2,5/5/5	5/5/5	Hiberix™	Meningitec™
	% 95% CL GMC/T LL UL	% 95% CL GMC/T LL UL	% 95% CL GMC/T LL UL	% 95% CL GMC/T LL UL	% 95% CL GMC/T LL UL
%≥1:8	99 94,7 100	100 96,5 100	100 96,5 100	2,9 0,6 8,4	100 96,5 100
GMT	3132 2497 3930	4206 3409 5189	3697 3118 4384	4,7 3,9 5,6	4501 3904 5180

Tabla 5c: SBA MenA

Grupo	2,5/2,5/2,5	2,5/5/5	5/5/5	Hiberix™	Meningitec™
-------	-------------	---------	-------	----------	-------------

	% 95% CL			% 95% CL			% 95% CL			% 95% CL			% 95% CL		
	GMC/T	LL	UL	GMC/T	LL	UL	GMC/T	LL	UL	GMC/T	LL	UL	GMC/T	LL	UL
%≥1:8	99,7	91,9	99,7	100	95,8	100	100	96,2	100	6,8	2,5	14,3	9,1	4,0	17,1
GMT	316,7	251,4	398,9	418,5	358,6	488,5	363	310,5	424,4	5,6	4,3	7,4	5,6	4,4	7,2

Tabla 5d: Anti-PSC (µg/ml)

Grupo	2,5/2,5/2,5			2,5/5/5			5/5/5			Hiberix™			Meningitec™		
	% 95% CL			% 95% CL			% 95% CL			% 95% CL			% 95% CL		
	GMC/T	LL	UL	GMC/T	LL	UL	GMC/T	LL	UL	GMC/T	LL	UL	GMC/T	LL	UL
%≥0,3	100	96,5	100	100	96,4	100	100	96,5	100	8,2	3,6	15,6	100	96,5	100
GMC	49,03	43,24	55,59	71,11	62,49	80,92	61,62	54,88	69,20	0,17	0,15	0,19	58,02	51,42	65,46

Tabla 5e: Anti - PSA (µg/ml)

Grupo	2,5/2,5/2,5			2,5/5/5			5/5/5			Hiberix™			Meningitec™		
	% 95% CL			% 95% CL			% 95% CL			% 95% CL			% 95% CL		
	GMC/T	LL	UL	GMC/T	LL	UL	GMC/T	LL	UL	GMC/T	LL	UL	GMC/T	LL	UL
%≥0,3	100	96,4	100	100	96,5	100	99,0	94,8	100	1,0	0,0	5,4	5,9	2,2	12,5
GMC	18,10	15,34	21,35	26,51	22,93	30,79	23,40	20,05	27,30	0,15	0,15	0,15	0,17	0,15	0,18

Conclusión

Una comparación de los resultados de inmunogenicidad conseguidos usando la vacuna conjugada de oligosacárido MenC-CRM197 y las tres formulaciones de GSK que contienen conjugados de polisacárido MenA-TT y MenC-TT mostró que los conjugados de polisacárido Men eran capaces de provocar una buena respuesta inmunogénica similar a la conseguida usando la vacuna de conjugado de oligosacárido Meningitec. Todas las formulaciones ensayadas dieron una respuesta a MenC en el 100% de los pacientes.

Ejemplo 5 - Ensayo clínico en fase II administrando Hib MenCY de manera concomitante con Infanrix penta de acuerdo con un programa de 2, 3 y 4 meses

Diseño del estudio: Un estudio de múltiples centros, controlado, aleatorizado, abierto (parcialmente doble ciego*), en fase II con 5 grupos que recibieron un programa primario de tres dosis con vacunas del siguiente modo:

- Grupo Hib-MenCY 2,5/5/5: Hib-MenCY (2,5/5/5) + Infanrix™ penta
- 5 Grupo Hib-MenCY 5/10/10: Hib-MenCY (5/10/10) + Infanrix™ penta
- Grupo Hib-MenCY 5/5/5: Hib-MenCY (5/5/5) + Infanrix™ penta
- Grupo Hib-MenC: Hib-MenC (5/5) + Infanrix™ penta
- Grupo Menjugate: Menjugate™** + Infanrix™ hexa (control).

*Se administró Hib-MenCY 2,5/5/5, Hib-MenCY 5/10/10 y Hib-MenC de
10 un modo doble ciego mientras que el grupo Hib-MenCY 5/5/5 y el grupo Menjugate eran abiertos. Las formulaciones 2,5/5/5, 5/10/10 y 5/5/5 de Hib-MenCY contienen polisacáridos nativos MenC y polisacáridos MenY que están microfluidizados.

**Menjugate™ contiene 10 µg de oligosacáridos MenC conjugados con
15 12,5-25 µg de CRM197 por dosis y está producido por Chiron.

Vacunación a +/- 2, 3, 4 meses de edad (Mes de estudio 0, Mes 1 y Mes 2), y muestras sanguíneas (3,5 ml) de todos los sujetos antes y un mes después de la vacunación primaria (Mes de Estudio 0 y Mes 3).

Vacuna, dosis, modo de administración, número de lote del estudio:

20 Tres dosis inyectadas por vía intramuscular a intervalos de un mes, a aproximadamente 2, 3 y 4 meses de edad del siguiente modo:

Tabla 6: Vacunas administradas (estudio y control), grupo, programa/sitio y dosis

Grupo	Programa (meses de edad)	Dosis de vacuna administrada	Vacuna concomitante administrada
		Sitio-Muslo superior izquierdo	Sitio-Muslo superior derecho
Hib-MenCY	2, 3, y 4	Hib (2,5 µg)- MenC-TT (5 µg)-	DTPa-HBV-IPV (Infanrix™ penta)

1110

2,5/5/5		MenY-TT (5 µg)	
Hib-MenCY 5/10/10	2, 3, y 4	Hib (5 µg)-MenC-TT (10 µg)- MenY-TT (10 µg)	DTPa-HBV-IPV (Infanrix™ penta)
Hib-MenCY 5/5/5	2, 3, y 4	Hib (5 µg)-MenC-TT (5 µg)- MenY-TT (5 µg)	DTPa-HBV-IPV (Infanrix™ penta)
Hib-MenC	2, 3, y 4	Hib (5 µg)-Men C (5 µg)	DTPa-HBV-IPV (Infanrix™ penta)
Menjugate™	2, 3, y 4	Menjugate™	DTPa-HBV-IPV/Hib (Infanrix™hexa)

Inmunogenicidad: Medida de títulos/concentraciones de anticuerpo contra cada antígeno de la vacuna:

Antes de la primera dosis (Mes 0) y aproximadamente un mes después de la tercera dosis (Mes 3) en todos los sujetos para: SBA-MenC y SBA-MenY, anticuerpos anti-PSC y anti-PSY, anti-PRP, anti-T, anti-FHA, anti-PRN y anti-PT. Usando la actividad bactericida en suero contra los serogrupos C e Y de *N. meningitidis* (límite para SBA-MenC y SBA-MenY: 1:8 y 1:128); ensayos ELISA con límites: $\geq 0,3$ µg/ml y ≥ 2 µg/ml para anticuerpos anti-polisacáridos de los serogrupos C e Y de *N. meningitidis* (IgG anti-PSC e IgG anti-PSY); $\geq 0,15$ µg/ml y $\geq 1,0$ µg/ml para polisacárido de Hib polirribosil-ribitol-fosfato (IgG anti-PRP); 5EL.U/ml para anticuerpo anti-FHA, anti-PRN, anti-PT; $\geq 0,1$ IU/ml de anticuerpo anti-toxoide tetánico (anti-TT). Sólo un mes después de la tercera dosis (Mes 3) en todos los sujetos para: anticuerpo anti-D, anti-HBs y anti-polio 1, 2 y 3. Usando ensayos ELISA con límites: 0,1 IU/ml para anticuerpo anti-difteria (anti-D); ≥ 0 mIU/ml para anticuerpo antihepatitis B (anti-HBs); y límite para el ensayo de microneutralización: 1:8 para anticuerpos anti-polio tipo 1, 2 y 3 (anti-polio 1, 2 y 3).

Procedimientos estadísticos:

AAA

Las proporciones de seroprotección/seropositividad y medias geométricas de las concentraciones/títulos (GMC/GMT) con intervalos de confianza del 95% (95% CI) se calcularon por grupo, para SBA-MenC, anti-PSC, SBA-MenY, anti-PSY, anti-PRP, anti-Tétanos, anti-PT, anti-FHA y anti-PRN antes de y un mes después de la vacunación; para anticuerpos anti-Difteria, anti-HBs, anti-Polio 1, anti-Polio 2 y anti-Polio 3 un mes después de la vacunación. La respuesta a la vacuna (aparición de anticuerpos en sujetos inicialmente seronegativos o al menos mantenimiento de las concentraciones de anticuerpos en sujetos inicialmente seropositivos) con 95% CI para anticuerpos anti-PT, anti-PRN y anti-FHA también se calcularon un mes después de la vacunación. También se presentaron curvas de acumulación inversa para cada anticuerpo en el Mes 3. Las diferencias entre los grupos Hib-MenCY y Hib-MenC, en comparación con el grupo de control Menjugate™ se evaluaron de un modo exploratorio para cada anticuerpo, excepto para SBA-MenY y anticuerpos anti-PSY, en términos de (1) la diferencia entre el grupo Menjugate™ (menos) los grupos Hib-MenCY y Hib-MenC para el porcentaje de sujetos por encima de los límites especificados o con una respuesta a la vacuna con sus 95% CI asintóticos normalizados, (2) las proporciones GMC o GMT del grupo Menjugate™ sobre los grupos Hib-MenCY y Hib-MenC con sus 95% CI. Se hicieron las mismas comparaciones para evaluar la diferencia entre cada par de formulaciones de Hib-MenCY para anticuerpos anti-PRP, SBA-MenC, anti-PSC, SBA-MenY, anti-PSY y anti-TT.

Proporciones de seroprotección/seropositividad y GMC/T (cohorte ATP para inmunogenicidad)

25 Tabla 7a: Anti - PRP (µg/ml)

Grupo	N	%≥0,15	LL	UL	≥	LL	UL	GMC	LL	UL
Hib MenCY 2,5/5/5	67	100,0	94,6	100,0	98,5	92,0	100,0	9,01	7,25	11,21
Hib MenCY 5/10/10	67	100,0	94,6	100,0	98,5	92,0	100,0	9,49	7,72	11,65
Hib MenCY 5/5/5	70	100,0	94,9	100,0	98,6	92,3	100,0	8,08	6,53	9,98
Hib MenC	74	100,0	95,1	100,0	98,6	92,7	100,0	10,44	8,49	12,83
Menjugate™	71	100,0	94,9	100,0	80,3	69,1	88,8	2,60	1,97	3,43

Tabla 7b: SBA -MenC (Título)

Grupo	N	%≥1:8	LL	UL	≥:128	LL	UL	GMT	LL	UL
Hib MenCY 2,5/5/5	70	100,0	94,9	100,0	95,7	88,0	99,1	1005,8	773,5	1308,0
Hib MenCY 5/10/10	67	100,0	94,6	100,0	94,0	85,4	98,3	1029,8	799,7	1326,0
Hib MenCY 5/5/5	71	100,0	94,9	100,0	94,4	86,2	98,4	906,9	691,3	1189,8
Hib MenC	74	100,0	95,1	100,0	95,9	88,6	99,2	871,0	677,3	1120,0
Menjugate™	71	100,0	94,9	100,0	100,0	94,9	100,0	3557,6	2978,8	4248,8

Tabla 7c: Anti-PSC (µg/ml)

Grupo	N	%≥0,3	LL	UL	≥	LL	UL	GMC	LL	UL
Hib MenCY 2,5/5/5	69	100,0	94,8	100,0	100,0	94,8	100,0	21,70	18,36	25,65
Hib MenCY 5/10/10	66	100,0	94,6	100,0	100,0	94,6	100,0	27,26	23,26	31,95
Hib MenCY 5/5/5	70	100,0	94,9	100,0	100,0	94,9	100,0	19,02	16,49	21,93
Hib MenC	74	100,0	95,1	100,0	100,0	95,1	100,0	21,08	18,24	24,35
Menjugate™	71	100,0	94,9	100,0	100,0	94,9	100,0	38,49	33,64	44,05

Tabla 7d: SBA-MenY (Título)

Grupo	N	%≥1:8	LL	UL	≥:128	LL	UL	GMT	LL	UL
Hib MenCY 2,5/5/5	69	97,1	89,9	99,6	92,8	83,9	97,6	470,7	351,1	631,2
Hib MenCY 5/10/10	66	97,0	89,5	99,6	86,4	75,7	93,6	437,1	322,0	593,4,8
Hib MenCY 5/5/5	71	98,6	92,4	100,0	95,8	88,1	99,1	635,3	501,5	804,8
Hib MenC	74	21,6	12,9	32,7	13,5	6,7	23,5	9,3	6,3	13,7
Menjugate™	71	19,7	11,2	30,9	9,9	4,1	19,3	7,5	5,4	10,4

Tabla 7e: Anti-PSY (µg/ml)

Grupo	N	%≥0,3	LL	UL	≥	LL	UL	GMC	LL	UL
Hib MenCY 2,5/5/5	69	100,0	94,8	100,0	100,0	94,8	100,0	26,86	22,86	31,56
Hib MenCY 5/10/10	66	100,0	94,6	100,0	100,0	94,6	100,0	37,02	31,84	43,04

Hib MenCY 5/5/5	70	100,0	94,9	100,0	100,0	94,9	100,0	23,57	19,94	27,86
Hib MenC	74	8,1	3,0	16,8	4,1	0,8	11,4	0,19	0,15	0,25
Menjugate™	71	5,6	1,6	13,8	1,4	0,0	7,6	0,17	0,15	0,19

Tabla 7f: Anti-tétanos (IU/ml)

Grupo	N	%≥0,1	LL	UL	GMC	LL	UL
Hib MenCY 2,5/5/5	68	100,0	94,7	100,0	3,06	2,63	3,55
Hib MenCY 5/10/10	67	100,0	94,6	100,0	3,25	2,88	3,68
Hib MenCY 5/5/5	70	100,0	94,9	100,0	2,97	2,59	3,41
Hib MenC	74	100,0	95,1	100,0	3,15	2,73	3,64
Menjugate™	71	100,0	94,9	100,0	1,66	1,39	1,97

Grupo Hib-MenCY 2,5/5/5: Hib-MenCY (2,5/5/5) + Infanrix™ penta

Grupo Hib-MenCY 5/10/10: Hib-MenCY (5/10/10) + Infanrix™ penta

5 **Grupo Hib-MenCY 5/5/5:** Hib-MenCY (5/5/5) +Infanrix™ penta

Grupo Hib-MenC: Hib-Men (5/5)+ Infanrix™ hexa

Grupo Menjugate: Menjugate™ + Infanrix™ penta

N = número de sujetos con resultados disponibles. % = porcentaje de sujetos con concentración/título en el intervalo especificado

10 GMC/T: media geométrica de la concentración/título 95% CI = intervalo de confianza del 95%; LL = Límite inferior; UL = Límite superior.

Conclusión

Los conjugados de polisacárido MenC e Y produjeron una buena respuesta inmune en todos los sujetos produciendo el 100% de los sujetos

15 respuestas por encima de 0,3 µg/ml contra MenC y MenY.

Ejemplo 6 - Ensayo clínico en fase II que compara tres formulaciones de MenACWY-TT con vacuna conjugada de oligosacárido MenC-CRM197 Meningitec.

114

Este ejemplo presenta un estudio de intervalo de dosis controlado, aleatorizado, abierto (parcialmente ciego), en fase II para evaluar la Inmunogenicidad de tres formulaciones diferentes de una vacuna conjugada de los serogrupos A, C, W-135, e Y de meningococos, y toxoide tetánico de
5 GlaxoSmithKline Biological (MenACWY-TT) en comparación con una vacuna conjugada de oligosacárido MenC-CRM197 (Meningitec) cuando se da en forma de una dosis a niños con edad de 12-14 meses.

El ensayo clínico era un estudio multicéntrico, controlado, abierto (parcialmente doble-ciego*), en el que se aleatorizaron sujetos elegibles de 12-
10 14 meses (1:1:1:1) a uno de los cuatro grupos paralelos de 50 sujetos para recibir una dosis primaria única en la Visita 1 del siguiente modo:

Formulación 1T: MenACWY-TT a una dosis de 2,5 µg de polisacárido MenA conjugado con toxoide tetánico (TT), 2,5 µg de polisacárido MenC conjugado con TT, 2,5 µg de polisacárido MenW conjugado con TT y 2,5 µg de
15 polisacárido MenY conjugado con TT.

Formulación 2T: MenACWY-TT a una dosis de 5 µg de polisacárido MenA conjugado con TT, 5 µg de polisacárido MenC conjugado con TT, 5 µg de polisacárido MenW conjugado con TT y 5 µg de polisacárido MenY conjugado con TT.

20 Formulación 3T: MenACWY-TT a una dosis de 2,5 µg de polisacárido MenA conjugado con TT, 10 µg de polisacárido MenC conjugado con TT, 2,5 µg de polisacárido MenW conjugado con TT y 2,5 µg de polisacárido MenY conjugado con TT.

Control T: 10 µg de oligosacárido MenC conjugado con 12,5-25 µg de
25 CRM197 (Meningitec™).

*Las tres diferentes formulaciones MenACWY-TT se administraron de un modo doble-ciego.

Programa/sitio de vacunación: Se administró una única dosis de vacuna por vía intramuscular en el deltoides izquierdo en la Visita 1 (Mes de Estudio 0) de acuerdo con la asignación aleatorizada. Todas las vacunas candidatas se suministraron en forma de sedimento liofilizado en un vial monodosis (0,5 ml después de la reconstitución con el diluyente salino suministrado).

Inmunogenicidad: Medida de títulos/concentraciones de anticuerpos contra componentes antigénicos de la vacuna de meningococos en muestras sanguíneas obtenidas antes de la dosis de la vacuna de estudio (Mes 0) y aproximadamente un mes después de la dosis de la vacuna de estudio (Mes 1) en todos los sujetos. Determinación de títulos de anticuerpos bactericidas contra los serogrupos A, C, W-135 e Y de *N. meningitidis* (SBA-MenA, SBA-MenC, SBA-MenW y SBA-MenY) por un ensayo bactericida (límites del ensayo: una dilución de 1:8 y 1:128) y medida por ELISA de anticuerpos contra los serogrupos A, C, W-135 e Y de *N. meningitidis* (límites de ensayo de anticuerpos anti-PSA, anti-PSC, anti-PSW y anti-PSY, $\geq 0,3 \mu\text{g/ml}$ y $\geq 2 \mu\text{g/ml}$), y toxoide tetánico (límite del ensayo de anticuerpo anti-tetánico 0,1 IU/ml).

Resultados

La respuesta de anticuerpos en términos del porcentaje de respondedores SBA-MenA, SBA-MenC, SBA-MenW y SBA-MenY un mes después de la vacunación (el límite principal) se muestra en la Tabla 8. Una respuesta se define como superior o igual a un aumento de 4 veces para sujetos seropositivos o seroconversión para sujetos seronegativos antes de la vacunación.

Tabla 8: Respuestas a la vacuna para anticuerpos SBA un mes después de la vacunación

Anticuerpo	Grupo	N	%	LL	UL
SBA-MenA	Form. 1T	42	61,9	45,6	76,4
	Form. 2T	39	82,1	66,5	92,5
	Form. 3T	40	62,5	45,8	77,3
	Meningitec™	36	11,1	3,1	26,1
SBA-MenC	Form. 1T	46	97,8	88,5	99,9
	Form. 2T	43	100,0	91,8	100,0
	Form. 3T	44	95,5	84,5	99,4
	Meningitec™	49	91,8	80,4	97,7
SBA-MenW	Form. 1T	45	100,0	92,1	100,0
	Form. 2T	43	97,7	87,7	99,9
	Form. 3T	45	100,0	92,1	100,0
	Meningitec™	46	15,2	6,3	28,9
SBA-MenY	Form. 1T	47	97,9	88,7	99,9
	Form. 2T	44	88,6	75,4	96,2
	Form. 3T	45	93,3	81,7	98,6
	Meningitec™	49	4,1	0,5	14,0

La Tabla 9 muestra las cantidades de sujetos que consiguieron títulos SBA por encima de los límites de 1:8 y 1:128 así como GMT.

Tabla 9: Proporciones de seropositividad y GMT para anticuerpos SBA un mes después de la vacunación

	Grupo	N		≥:8			≥:128		
--	-------	---	--	-----	--	--	-------	--	--

			%	LL	UL	%	LL	UL	GMT
SBA-MenA	Form. 1T	46	100	92,3	100	100	92,3	100	1457,3
	Form. 2T	45	100	92,1	100	97,8	88,2	99,9	1776,9
	Form. 3T	48	97,9	88,9	99,9	97,9	88,9	99,9	1339,5
	Meningitec™	41	51,2	35,1	67,1	43,9	28,5	60,3	42,8
SBA-MenC	Form. 1T	47	97,9	88,7	99,9	78,7	64,3	89,3	281,3
	Form. 2T	45	100	92,1	100	84,4	70,5	93,5	428,6
	Form. 3T	47	95,7	85,5	99,5	85,1	71,7	93,8	478,4
	Meningitec™	50	94,0	83,5	98,7	62,0	47,2	75,3	200,1
SBA-MenW	Form. 1T	47	100	92,5	100	100	92,5	100	2529,1
	Form. 2T	45	100	92,1	100	100	92,1	100	2501,6
	Form. 3T	48	100	92,6	100	97,9	88,9	99,9	2300,2
	Meningitec™	48	27,1	15,3	41,8	6,3	1,3	17,2	9,4
SBA-MenY	Form. 1T	47	100	92,5	100	100	92,5	100	1987,4
	Form. 2T	45	100	92,1	100	100	92,1	100	2464,8
	Form. 3T	48	100	92,6	100	97,9	88,9	99,9	2033,7
	Meningitec™	49	49,0	34,4	63,7	28,6	16,6	43,3	25,0

La vacunación con las tres formulaciones del conjugado de polisacárido ACWY-TT condujo a buenas respuestas SBA contra MenA, MenC, MenW y MenY con el 95-100% de los sujetos con títulos superiores a 1:8. En particular, las formulaciones 5/5/5/5 y 2,5/10/2,5/2,5 de los conjugados de polisacárido produjeron una respuesta superior contra MenC que la vacuna Meningitec de oligosacárido como se observa por una proporción superior de sujetos que tienen un título superior a 1:128 y las lecturas de GMT.

10 Tabla 10 Proporciones de seropositividad y GMC para anticuerpos anti-polisacárido un mes después de la vacunación

	Grupo	N	≥ 3 μg/ml	≥ μg/ml	GMC
--	-------	---	-----------	---------	-----

118

			%	LL	UL	%	LL	UL	µg/ml
Anti-MenA	Form. 1T	47	93,6	82,5	98,7	68,1	52,9	80,9	2,35
	Form. 2T	45	100	92,1	100	64,4	48,8	78,1	3,11
	Form. 3T	48	95,8	85,7	99,5	37,5	24,0	52,6	1,65
	Meningitec™	50	10,0	3,3	21,8	2,0	0,1	10,6	0,18
Anti-MenC	Form. 1T	47	100	92,5	100	100	92,5	100	9,57
	Form. 2T	45	100	92,1	100	100	92,1	100	12,53
	Form. 3T	47	100	92,5	100	97,9	88,7	99,9	19,29
	Meningitec™	49	98,0	89,1	99,9	93,9	83,1	98,7	7,95
Anti-MenW	Form. 1T	47	100	92,5	100	80,9	66,7	90,9	4,56
	Form. 2T	45	100	92,1	100	93,3	81,7	98,6	6,83
	Form. 3T	48	93,8	82,8	98,7	72,9	58,2	84,7	2,88
	Meningitec™	50	0,0	0,0	7,1	0,0	0,0	7,1	0,15
Anti-MenY	Form. 1T	47	100	92,5	100	97,9	88,7	99,9	8,90
	Form. 2T	45	100	92,1	100	100	92,1	100	12,78
	Form. 3T	47	97,9	88,7	99,9	87,2	74,3	95,2	5,67
	Meningitec™	50	2,0	0,1	10,6	0,0	0,0	7,1	0,15

Las tres formulaciones de la vacuna de conjugado de polisacárido ACWY-TT produjeron buenas respuestas inmunes contra MenA, MenC, MenW y MenY consiguiendo entre el 93% y el 100% de los sujetos títulos superiores a 0,3 µg/ml. Se consiguieron lecturas de GMC superiores usando las formulaciones 5/5/5/5 y 2/5/10/2,5/2,5 de la vacuna conjugada de polisacárido ACWY-TT en comparación con Meningitec™.

Ejemplo 7 - comparación de inmunogenicidad de conjugados de polisacárido MenY nativos y con el tamaño ajustado

10 Ratones (DBA/2 hembra de 6-8 semanas) recibieron dos inyecciones, separadas por 2 semanas, de PSY-TT por vía subcutánea. Se tomaron

muestras sanguíneas 14 días después de la segunda inyección para realizar un ELISA anti-PSY y SBA usando la cepa S1975 menY. Por inyección, los ratones recibieron 1 µg de PSY-TT (formulación lio no-ads).

Se usaron los conjugados descritos en la tabla 11.

5 Tabla 11

Conjugados	ENYTT012	ENYTT014	ENYTT015 bis
microfluidización de PSY	NO	Sí (40 ciclos)	Sí (20 ciclos)
proporción TT/PS	1/1	1/1	1/1

Resultados

Los resultados (Figura 1) muestran una tendencia hacia una inmunogenicidad superior para conjugados preparados usando PSY con el tamaño ajustado. La Figura 1A muestra los resultados de GMC obtenidos en un ELISA para antisueros surgidos contra conjugados preparados a partir de MenY nativo (ENYTT012), MenY microfluidizado - 40 ciclos (ENYTT014) y MenY microfluidizado - 20 ciclos (ENYTT015 bis). Se obtuvieron GMC superiores cuando se preparaba MenY-TT a partir de MenY microfluidizado.

15 Se obtuvieron resultados similares cuando los antisueros se evaluaban por ensayo SBA (Figura 1B). Otra vez se consiguieron los valores de GMT superiores usando conjugados preparados a partir de MenY microfluidizado.

Habiendo descrito la invención como antecede, se declara como propiedad lo contenido en las siguientes.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición inmunogénica que comprende polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno de los serogrupos A, C, W135 e Y conjugados con una proteína vehículo para producir un conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis*, en la que el tamaño medio de cada polisacárido de *N. meningitidis* es superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110
10 kDa, 120 kDa o 130 kDa.
2. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 que comprende polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* de al menos uno de los serogrupos A, C, W135 e Y conjugados con una proteína vehículo para formar conjugados
15 de *N. meningitidis*, en la que cada polisacárido de *N. meningitidis* es un polisacárido nativo o su tamaño está ajustado por un factor de no más de x10.
3. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 ó 2, en la que cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* es un polisacárido nativo.
20
4. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, en la que se ajusta el tamaño de al menos un polisacárido capsular de *N. meningitidis* por microfluidización.

25

5. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 ó 2, en la que se ajusta el tamaño de cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* por un factor de no más de x10.
- 5 6. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 ó 2, en la que los conjugados de *N. meningitidis* se preparan a partir de una mezcla de polisacáridos nativos y polisacáridos que tienen un tamaño ajustado por un factor de no más de x10.
- 10 7. La composición inmunogénica de la reivindicación 6, en la que se ajusta el tamaño de los polisacáridos capsulares del serogrupo Y por un factor de no más de x10.
8. La composición inmunogénica de la reivindicación 6 ó 7, en la que los
15 polisacáridos capsulares de los serogrupos A y C son nativos y los polisacáridos de los serogrupos W135 e Y tienen un tamaño ajustado por un factor de no más de x10.
9. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación precedente en
20 la que el tamaño medio de cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* está entre 50 kDa y 300 kDa o 50 kDa y 200 kDa.
10. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 que comprende un polisacárido capsular MenA que tiene un tamaño medio
25 superior a 50kDa, 75 kDa, 100 kDa o un tamaño medio entre 50-100 kDa o 55-

90 kDa o 60-80 kDa.

11. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 que comprende un polisacárido capsular MenC que tiene un tamaño medio superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa o entre 100-200 kDa, 100-150 kDa, 80-120 kDa, 90-110 kDa, 150-200 kDa, 120-240 kDa, 140-220 kDa, 160-200 kDa o 190-200 kDa.

12. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 que comprende un polisacárido capsular MenY, que tiene un tamaño medio superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, o entre 60-190 kDa, o 70-180 kDa u 80-170 kDa o 90-160 kDa o 100-150 kDa, 110-145 kDa o 120-140 kDa.

13. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 que comprende un polisacárido capsular MenW que tiene un tamaño medio superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa, o entre 60-190 kDa o 70-180 kDa u 80-170 kDa o 90-160 kDa o 100-150 kDa, 140-180 kDa, 150-170 kDa o 110-140 kDa.

14. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación precedente, en la que cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* se conjuga con una proteína vehículo independientemente seleccionada entre el grupo constituido por TT, DT, CRM197, fragmento C de TT y proteína D.

15. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación precedente, en la que cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* se conjuga con la misma proteína vehículo seleccionada entre el grupo constituido por TT, DT, CRM197, fragmento C de TT y proteína D.
- 5
16. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación precedente, en la que cada conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis* tiene una proporción polisacárido:vehículo de 1:5-5:1 o 1:1-1:4 (p/p).
- 10 17. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación precedente, en la que al menos un conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis* se conjuga directamente con una proteína vehículo.
- 15 18. La composición inmunogénica de la reivindicación 17, en la que se conjugan MenW y/o MenY, MenW y/o MenC, MenY y/o MenC, o MenW y MenC y MenY directamente con una proteína vehículo.
- 20 19. La composición inmunogénica de la reivindicación 17 ó 18, en la que al menos un conjugado de polisacárido de *N. meningitidis* se conjuga directamente por química de CDAP.
20. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 17-19, en la que la proporción de polisacárido MenW y/o Y a proteína vehículo está entre 1:0,5 y 1:2.

21. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 17-20, en la que la proporción de polisacárido MenC a proteína vehículo está entre 1:0,5 y 1:2.
- 5 22. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-21, en la que uno o más polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* se conjuga con la proteína vehículo mediante un enlazante.
- 10 23. La composición inmunogénica de la reivindicación 22, en la que el enlazante es bifuncional.
24. La composición inmunogénica de la reivindicación 22 ó 23, en la que el enlazante tiene dos grupos amino reactivos.
- 15 25. La composición inmunogénica de la reivindicación 22 ó 23, en la que el enlazante tiene dos grupos ácido carboxílico reactivos.
- 20 26. La composición inmunogénica de la reivindicación 22 ó 23, en la que el enlazante tiene un grupo amino reactivo en un extremo y un grupo ácido carboxílico reactivo en el otro extremo.
27. La composición inmunogénica de la reivindicación 22-26, en la que el enlazante tiene entre 4 y 12 átomos de carbono.
- 25 28. La composición inmunogénica de la reivindicación 22 ó 23, en la que el

enlazante es ADH.

29. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 22-28, en la que el polisacárido capsular o cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* se conjuga con el enlazante con química de CDAP.

5

30. La composición inmunogénica de la reivindicación 22-29, en la que la proteína vehículo se conjuga con el enlazante usando química de carbodiimida, preferiblemente usando EDAC.

10

31. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 22-30, en la que el polisacárido capsular o cada polisacárido capsular de *N. meningitidis* se conjuga con el enlazante antes de que la proteína vehículo se conjugue con el enlazante.

15

32. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 22-31, en la que MenA se conjuga con una proteína vehículo mediante un enlazante.

20 33. La composición inmunogénica de la reivindicación 32, en la que la proporción de polisacárido MenA a proteína vehículo está entre 1:2 y 1:5.

34. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 22-33, en la que MenC se conjuga con una proteína vehículo mediante un enlazante.

25

35. La composición inmunogénica de la reivindicación 34, en la que la proporción de polisacárido MenC a proteína vehículo está entre 1:2 y 1:5.

36. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación precedente,
5 que comprende además un sacárido capsular de *H. influenzae* b conjugado con una proteína vehículo.

37. La composición inmunogénica de la reivindicación 36, en la que el
10 sacárido capsular de *H. influenzae* b se conjuga con una proteína vehículo seleccionada entre el grupo constituido por TT, DT, CRM197, fragmento C de TT y proteína D.

38. La composición inmunogénica de la reivindicación 36 ó 37, en la que la
15 proporción de Hib a proteína vehículo en el conjugado de sacárido capsular Hib está entre 1:5 y 5:1 (p/p).

39. La composición inmunogénica de la reivindicación 38, en la que la
proporción de Hib a proteína vehículo en el conjugado de sacárido capsular Hib
está entre 1:1 y 1:4, 1:2 y 1:3,5 o alrededor de 1:3 (p/p).

20

40. La composición inmunogénica de la reivindicación 38 ó 39, en la que el
sacárido capsular Hib se conjuga con la proteína vehículo mediante un
enlazante.

25

41. La composición inmunogénica de la reivindicación 40, en la que el enlazante es bifuncional.
42. La composición inmunogénica de la reivindicación 40 ó 41, en la que el enlazante tiene dos grupos amino reactivos.
43. La composición inmunogénica de la reivindicación 40 ó 41, en la que el enlazante tiene dos grupos ácido carboxílico reactivos.
44. La composición inmunogénica de la reivindicación 40 ó 41, en la que el enlazante tiene un grupo amino reactivo en un extremo y un grupo ácido carboxílico reactivo en el otro extremo.
45. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 40-44 en la que el enlazante tiene entre 4 y 12 átomos de carbono.
46. La composición inmunogénica de la reivindicación 40 ó 1, en la que el enlazante es ADH.
47. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 36-46, en la que el sacárido Hib se conjuga con la proteína vehículo o enlazante usando CNBr o CDAP.
48. La composición inmunogénica de la reivindicación 40-47, en la que la proteína vehículo se conjuga con el sacárido Hib mediante el enlazante usando

un procedimiento que comprende química de carbodiimida, preferentemente química de EDAC.

49. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 5 36-48, que comprende un conjugado de sacárido Hib y al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales, en la que el conjugado Hib está presente a una dosis menor que la dosis media de los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.
- 10 50. La composición inmunogénica de la reivindicación 49, en la que el conjugado Hib está presente en una dosis menor que la dosis de cada uno de los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.
51. La composición inmunogénica de la reivindicación 49 ó 50, en la que los 15 al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden conjugado de polisacárido capsular del serogrupo C de *N. meningitidis* (MenC).
52. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 49-51, en la que los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos 20 adicionales comprenden conjugado de polisacárido capsular del serogrupo Y de *N. meningitidis* (MenY).
53. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 49-52, en la que los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos 25 adicionales comprenden conjugado de polisacárido capsular del serogrupo A

de *N. meningitidis* (MenA).

54. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 49-53, en la que los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos
5 adicionales comprenden conjugado de polisacárido capsular del serogrupo W135 de *N. meningitidis* (MenW).

55. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 49-54, en la que los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos
10 adicionales comprenden un sacárido capsular de *S. pneumoniae* derivado de una cepa seleccionada entre el grupo constituido por los serotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F.

15 56. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 49-55, en la que los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden un sacárido capsular de *S. typhi* Vi.

57. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones
20 49-56, en la que la dosis del conjugado de sacárido Hib está entre 0,1 y 9 µg, 1 y 5 µg, o 2 y 3 µg de sacárido.

58. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 49-57, en la que la dosis de cada uno de los al menos dos conjugados de
25 sacáridos adicionales está entre 2 y 20 µg, 3 y 10 µg o 4 y 7 µg de sacárido.

59. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 49-58, en la que la dosis de sacárido del conjugado de sacárido Hib es menor del 90%, 75% o 60%, entre el 20% y el 60% o alrededor del 50% de la dosis media de sacárido de los al menos dos conjugados de sacárido adicionales.
- 5
60. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 49-59, en la que la dosis de sacárido del conjugado de sacárido Hib es menor del 90%, 75% o 60% o está entre el 20-60% o está alrededor del 50% de la dosis de sacárido de cada uno de los al menos dos conjugados de sacárido
- 10 adicionales.
61. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 49-60, en la que se usa la misma proteína vehículo en el conjugado Hib y dos o mas de los al menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.
- 15
62. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-61 que comprende una preparación de vesícula de la membrana externa o un sacárido capsular del serogrupo B de *N. meningitidis*.
- 20 63. Una vacuna que comprende la composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-62 y vehículo farmacéuticamente aceptable.
64. Un kit de vacuna para administración concomitante o secuencial que
- 25 comprende dos composiciones inmunogénicas multivalentes para proporcionar

protección en un hospedera contra enfermedad causada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*, comprendiendo dicho kit un primer recipiente que comprende:

- 5 toxoide tetánico (TT),
 toxoide diftérico (DT), y
 componentes de células enteras o componentes acelulares de pertussis,
y un segundo recipiente que comprende:

la composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones

10 1-62.

65. Un procedimiento para preparar la vacuna de la reivindicación 63, que comprende la etapa de mezclar la composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-62 con un vehículo farmacéuticamente
15 aceptable.

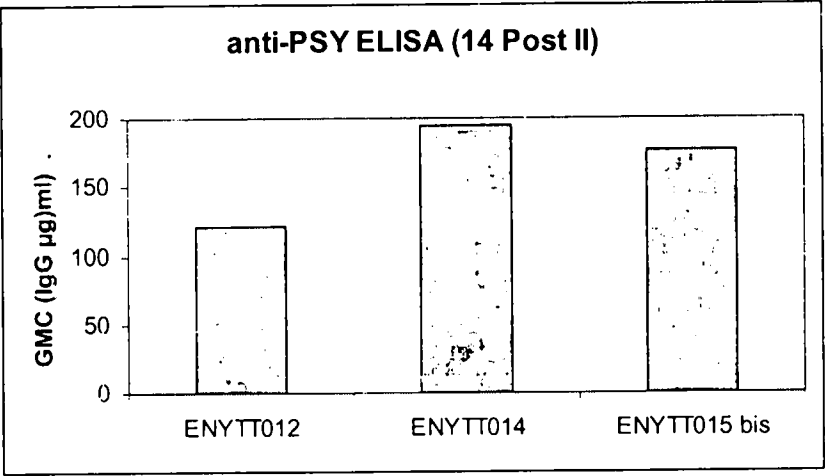
66. Un procedimiento para inmunizar un hospedera humano contra enfermedad causada por infección por *Neisseria meningitidis* que comprende administrar al hospedera una dosis inmunoprotectora de la composición
20 inmunogénica o vacuna de las reivindicaciones 1-64.

67. La composición inmunogénica de las reivindicaciones 1-62 para su uso en el tratamiento o prevención de enfermedad causada por infección por *Neisseria meningitidis*.

25

68. El uso de la composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-62 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedades causadas por infección por *Neisseria meningitidis*.

A



B

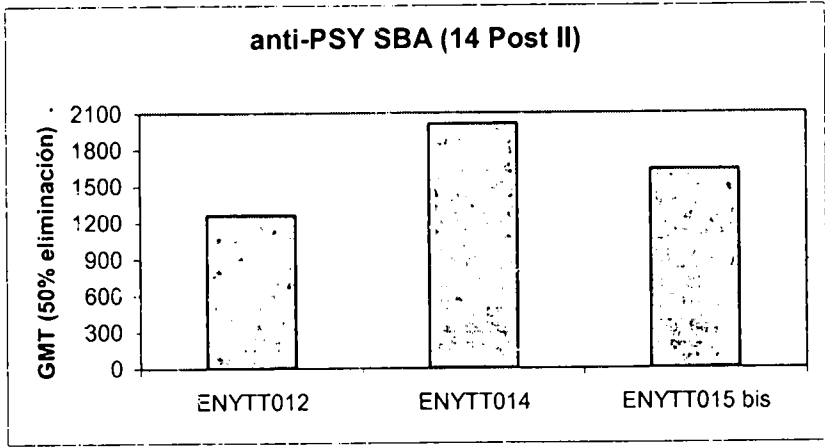


Figura 1

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION [x]

MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [x] 1
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [x] 1
- ◆ Descripción de la invención [x] 63
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes [x] 134
- ◆ 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 []

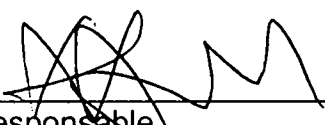
INCOMPLETA []

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

Fecha SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-136724- -00000-0000

Fecha: 2007-12-27 16:17:11 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 379 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 134

arrera 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