



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Organización de la R.A.A.

BT

101
R67

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

07-136744

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO "COMPOSICIÓN INMUNOGÉNICA"

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL A61K 39/095

71. SOLICITANTE GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS, S.A.

DOMICILIO RIXENSART, BÉLGICA.

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

22. BOGOTA, D.C. 27 DIC 2007

(FORMA P 10)

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-136744- -00000-0000

Fecha: 2007-12-27 16:42:17 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eva: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 148

FORMULARIO UNICO 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 SA**

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

Nacionalidad o Domicilio: Rixensart, Bélgica.

Lugar de Constitución: Bélgica.

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5°, 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/EP2006/006210

Fecha: 23/06/06

Publicación Internacional No. WO 2007/000322 A1

Fecha: 04/01/07

⑥

Título (54) **COMPOSICIÓN INMUNOGÉNICA**

composición inmunogénica que comprende un compuesto de sacárido de Haemophilus influenzae tipo B (Ver folio 161)

⑦

Clasificación Internacional (51) A61K 39/095

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

GB
GB
GB
GB

27/06/05
28/07/05
28/11/05
21/12/05

0513069.5
0515556.9
0524204.5
0526040.1
0513071.1
0526041.9

⑨

Comprobante de Pago No. 07-100.732

Fecha: Diciembre 11 de 2007

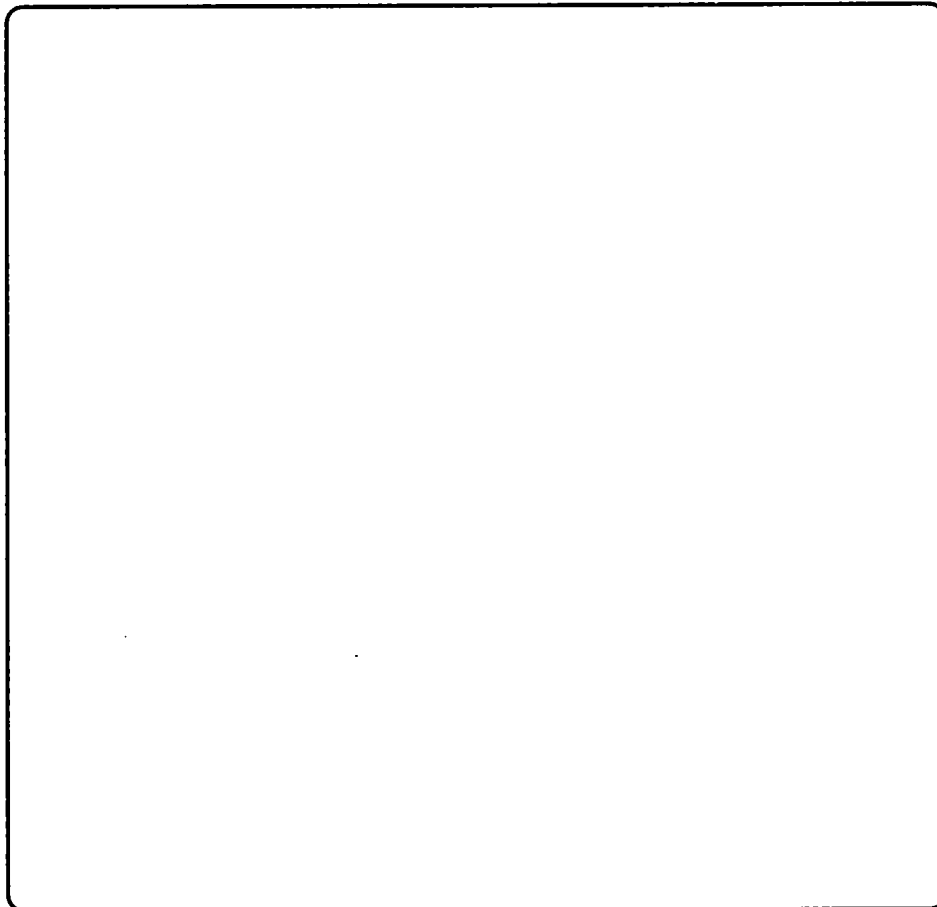
10

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)
- ☒ Copia del examen preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☒ Traducción del examen 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, Opinión escrita de la autoridad de búsqueda internacional con su traducción y Anexos a la Opinión escrita de la autoridad de búsqueda internacional.

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA

Alicia Lloreda Ricaurte

C.C. 39.690.713 Usaquén

T.P. 53.215

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-136744- -00000-0000

Fecha: 2007-12-27 16:42:17 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 148

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 100,732
FECHA : DICIEMBRE 11 DE 2007

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLORED A 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. _____

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 esta 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

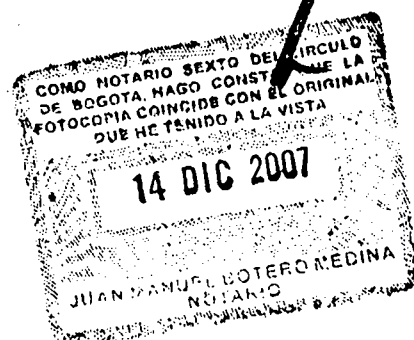
1. País: Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte
- Este documento público
2. ha sido firmado James Kerr Milligan
3. actuando como Notario Público
4. lleva el sello/estampilla de dicho Notario Publico

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)

TRADUCTOR OFICIAL
RESOLUCION 2177


ANITA ESCOBAR DE TAMAYO



MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

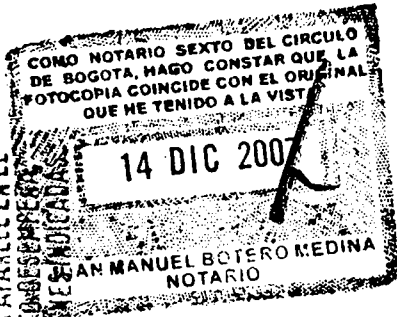
2004 SET 10 A 10:47

ues
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

260567

Anita Esobar

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DE REFERENCIA
LAS FUNCIONES INDICADAS



Sello de la Oficina de Asuntos
Exteriores y del Commonwealth

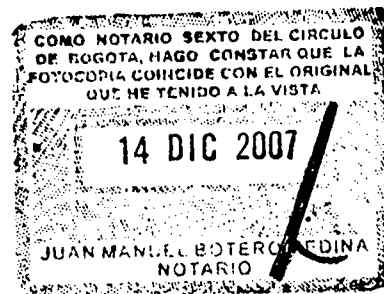
W. Glass
Por el Secretario de Estado

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

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

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;

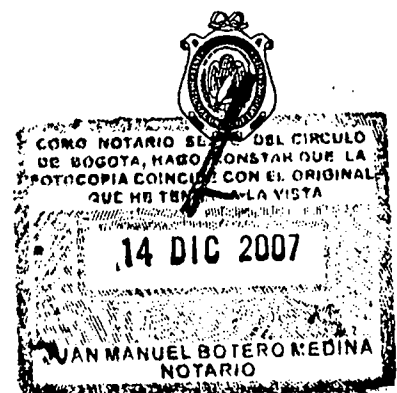
QUE el citado Señor Don **MARCUS JONATHAN WILLIAM DALTON** está debida y suficientemente autorizado para firmar documentos de esta clase, en virtud del Poder otorgado en su favor por la referida Sociedad fechado el 12 de junio de 2002, cuyo original he tenido a la vista.

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 of James Kerr Milligan

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

Certified/Attesté

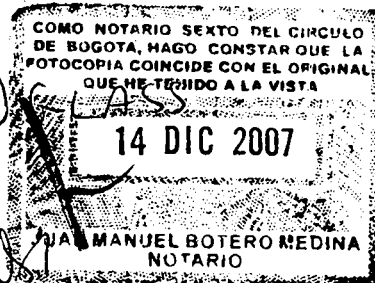
5. at London/à Londres 6. the/le 01 SEP 2004
7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs/
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

8. Number/sous No **G 749037**

9. Stamp:
timbre:



10. Signature: W. G. LASS



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

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

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

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

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

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

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

Dado y firmado

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

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

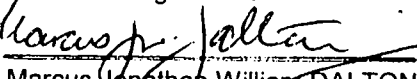
hereby appoint, ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial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

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

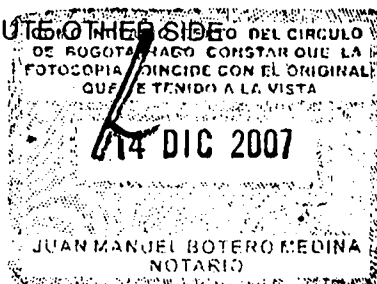
We also authorize doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

31 AUG 2004

Given and signed this


Marcus Jonathan William DALTON
Attorney and Authorised Official

NOTARY SHOULD EXECUTE



CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Bélgica

{ss

Hoy 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 está 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).

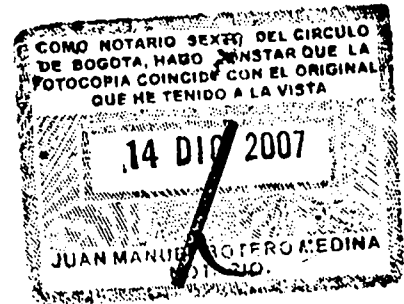
NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

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.



		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: A61K 39/095	
22) Fecha de solicitud: 27-12-07		(71) Solicitante(s) GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.	
(30) Prioridad (31) No. Prioridad (32) Fecha (33) País		(72) Inventor(es) BIEMANS, Ralph, Leon; BOUTRIAU, Dominique; CAPIAU, Carine; DENOEL, Philippe; DUVIVIER, Pierre y POOLMAN, Jan.	
0513069.5 0513071.1 27-06-05 GB		(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE	
0515556.9 28-07-05 GB			
0524204.5 28-11-05 GB			
0526040.1 0526041.9 21-12-05 GB			
(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: WO2007/000322 A1	
No. de solicitud PCT/EP2006/006210			
(54) Titulo: COMPOSICIÓN INMUNOGENICA			

Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 1.-

Una composición inmunogénica, la cual comprende un conjugado de sacárido de Hib, y cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales, en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido más baja que la dosis de sacárido promedio de todos los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES
PCT
REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL
(PCT Artículo 18 y Reglas 43 y 44)

Registro de referencia del solicitante o agente CLJ/VB61471	PARA FUTURAS ACCIONES ver Forma PCT/ISA/220 así como, donde aplique, el ítem 5 a continuación.	
Solicitud internacional No. PCT/EP2006/006210	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 <u>5</u> 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 según: ☒ la solicitud internacional en el lenguaje en el cual se presentó, ☐ la traducción de la solicitud internacional en _____, el cual es el lenguaje de la traducción proporcionada para el propósito de la 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 I. 2. ☒ Ciertas reivindicaciones no pudieron localizarse (Ver Recuadro II). 3. ☐ Falta unidad de invención (ver Recuadro 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 Norma 38.2(b), según aparece en el Recuadro 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 sugirió la Autoridad, porque el solicitante no sugirió una figura. ☐ como lo sugirió la autoridad, porque esta figura caracteriza mejor a la invención- b. ☐ Ninguna de las figuras se publicara en el resumen.		

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/006210

A. CLASIFICACION DE MATERIA INV. A61K39/095 A61K39/102 A61K39/116 Según la Clasificación de Patentes Internacional (CPI) o según la clasificación nacional y la CPI		
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-Interno, Dato WPI, BIOSIS		
C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
Y	WO 02/00249 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A.) 3 de enero de 2002 (2002-01-03) citado en la solicitud página 6, línea 23-página 11, línea 21; ejemplos 2-5	1-79
Y	----- EDA TAMM Y COL.: "Estudio doble ciego comparando la inmunogenicidad de una vacuna de conjugado DTwPHib-CRM197 licenciada (Quattvaxem) con tres formulaciones líquidas, de investigación, utilizando dosis bajas de conjugado Hib-CRM197" VACUNA, vol. 23, febrero 2005 (2005-02), páginas 1715-1719, XP004739805 documento completo	1-79
☒ 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 '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 13 de Noviembre de 2006		Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional 20/11/2006
Nombre y dirección de correo de 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		Funcionario autorizado MONTERO LOPEZ, B

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/006210

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 2005/032583 A (CHIRON SRL) 14 de abril de 2005 (2005-04-14) página 2, línea 23- línea 29 página 18, línea 30-página 19, línea 15 página 20, línea 5-página 21, línea 35 página 33, línea 14-página 35, línea 12 -----	1-79

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional No.
PCT/EP2006/006210

Casilla II Observaciones donde ciertas reivindicaciones fueron inescrutables (Continuación del Item 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 las reivindicaciones 71-73 está dirigida a un método de tratamiento del cuerpo humano/animal, la búsqueda ha sido llevada a cabo y basada en los efectos alegados del compuesto/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 No.:

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

Casilla No. III Observaciones donde falta unidad de invención (Continuación del Item 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 BUSQUEDA INTERNACIONAL

información sobre miembros familias de patentes

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/006210

Documento de patente citado en el reporte de búsqueda		Fecha de publicación		Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
WO 0200249	A	03-01-2002	AU	8189501 A	08-01-2002
			BG	107422 A	30-09-2003
			BR	0112057 A	17-06-2003
			CA	2412497 A1	03-01-2002
			CM	1449293 A	15-10-2003
			CZ	20024224 A3	14-05-2003
			EP	1296715 A2	02-04-2003
			HU	0301413 A2	28-08-2003
			JP	2004501873 T	22-01-2004
			MA	25824 A1	01-07-2003
			MX	PA03000198 A	13-09-2004
			NO	20026175 A	26-02-2003
			NZ	523319 A	27-01-2006
			OA	12302 A	24-10-2003
			PL	360265 A1	06-09-2004
			SK	18432002 A3	05-08-2003
			US	2003180316 A1	25-09-2003
WO 2005032583	A	14-04-2005	AU	2004277758 A1	14-04-2005
			CA	2540896 A1	14-04-2005
			EP	1670506 A2	21-06-2006

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference CLJ/VB61471	FOR FURTHER ACTION	see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.
International application No. PCT/EP2006/006210	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/EP2006/006210

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/095 A61K39/102 A61K39/116

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.
Y	WO 02/00249 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A.) 3 January 2002 (2002-01-03) cited in the application page 6, line 23 - page 11, line 21; examples 2-5	1-79
Y	----- EDA TAMM ET AL.: "Double-blind study comparing the immunogenicity of a licensed DTwPHib-CRM197 conjugate vaccine (Quattvaxem) with three investigational, liquid formulations using lower doses of Hib-CRM197 conjugate" VACCINE, vol. 23, February 2005 (2005-02), pages 1715-1719, XP004739805 the whole document ----- -/--	1-79

☒ 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

13 November 2006

Date of mailing of the international search report

20/11/2006

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

MONTERO LOPEZ, B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/006210

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 2005/032583 A (CHIRON SRL) 14 April 2005 (2005-04-14) page 2, line 23 - line 29 page 18, line 30 - page 19, line 15 page 20, line 5 - page 21, line 35 page 33, line 14 - page 35, line 12 -----	1-79

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2006/006210

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 claims 71-73 are 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

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2006/006210

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0200249	A	03-01-2002	AU 8189501 A	08-01-2002
			BG 107422 A	30-09-2003
			BR 0112057 A	17-06-2003
			CA 2412497 A1	03-01-2002
			CN 1449293 A	15-10-2003
			CZ 20024224 A3	14-05-2003
			EP 1296715 A2	02-04-2003
			HU 0301413 A2	28-08-2003
			JP 2004501873 T	22-01-2004
			MA 25824 A1	01-07-2003
			MX PA03000198 A	13-09-2004
			NO 20026175 A	26-02-2003
			NZ 523319 A	27-01-2006
			OA 12302 A	24-10-2003
			PL 360265 A1	06-09-2004
			SK 18432002 A3	05-08-2003
			US 2003180316 A1	25-09-2003
WO 2005032583	A	14-04-2005	AU 2004277758 A1	14-04-2005
			CA 2540896 A1	14-04-2005
			EP 1670506 A2	21-06-2006

SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



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

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2007/000322 A1

PCT

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷:
A61K 39/095 (2006.01) A61K 39/116 (2006.01)
A61K 39/102 (2006.01)

B-1330 Rixensart (BE). **POOLMAN, Jan** [NL/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/EP2006/006210

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

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

(81) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra manera para toda clase de protección nacional requerida): 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.

(25) Idioma de registro: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Información de Prioridad:
0513069.5 27 de Junio de 2005 (27.06.2005) GB
0513071.1 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

(84) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra manera para toda clase de protección regional requerida): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiatica (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) **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.** [BE/BE]; Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

Publicado:

-- con reporte de Búsqueda Internacional

- Antes de la expiración del límite de tiempo para modificar las reivindicaciones y ser publicadas de nuevo en el caso de recibo de modificaciones

(72) Inventores: y

(75) Inventores/ solicitantes (para Estados Unidos 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,

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 da a conocer una composición inmunogénica, la cual comprende un conjugado de sacárido de Hib y cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales, en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido más baja que la dosis de sacárido promedio de todos los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



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

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/000322 A1

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

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).

(21) International Application Number:
PCT/EP2006/006210

(74) Agent: **LUBIENSKI, Michael, John**; GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property (cn925.1), 980 Great West Road, Brentford Middlesex TW8 9GS (GB).

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

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0513069.5 27 June 2005 (27.06.2005) GB
0513071.1 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

(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.

(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 De L'institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

(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

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

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

(54) Title: IMMUNOGENIC COMPOSITION

(57) Abstract: The present application discloses an immunogenic composition comprising a Hib saccharide conjugate and at least two further bacterial saccharide conjugates wherein the Hib conjugate is present in a lower saccharide dose than the mean saccharide dose of all the at least two further bacterial saccharide conjugates.

WO 2007/000322 A1

TRATADO DE COOPERACION 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/VB61471	PARA FUTURAS ACCIONES Ver Forma PCT/IPEA/416																									
Solicitud Internacional No. PCT/EP 2006/006210	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>7</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 _____ 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 border="0"> <tr> <td>☒</td> <td>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 2007-03-22	Fecha de terminación de este reporte 15.06.2007																									
Nombre y dirección de correo de la IPEA European Patent Office-P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk-Pays Bas Tél. +31 70 340-2040 Tx. 31 651epo nl Fax. +31 70 340-3016	Funcionario autorizado MONTERO LOPEZ, B Teléfono No. +31 70 340-3739																									

Forma PCT/IPEA/409 (portada) (Abril 2005)

Casilla No. I Bases del reporte

1. Respecto al idioma, este reporte se basó en:

- ☒ La solicitud internacional en el idioma en el cual se presentó.
- ☐ Una traducción de la solicitud internacional al, que es el lenguaje de una traducción entregada para propósitos de:
- ☐ búsqueda internacional (según Reglas 12.3. 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 que has 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

1-39 como se presentaron originalmente

Reivindicaciones, números

1-79 como se presentaron originalmente

☐ la listado de secuencia y/o alguna tabla(s) - Ver Casilla Suplementaria relacionada al Listado de Secuencia

3. ☐ Las modificaciones resultaron en la cancelación de:

- ☐ la descripción, páginas
- ☐ las reivindicaciones, Nos.
- ☐ los dibujos, hojas/figuras
- ☐ listado de secuencia (especificar)
- ☐ cualquier tabla(s) relacionadas con la serie de listados (especificar)

4. ☐ Este reporte ha sido establecido como si (alguno de) los anexos corregidos 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©)..

- ☐ la descripción, páginas
- ☐ las reivindicaciones, Nos.
- ☐ los dibujos, hojas/figuras
- ☐ secuencia que enumera (especificar)
- ☐ algunas tabla(s) relatando secuencia numerada (especificar)

*si el Item 4 aplica, algunas o todas aquellas hojas pueden ser marcadas "reemplazadas"

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

1. Las cuestiones de si la invención reivindicada parece ser novedosa, involucrar nivel inventivo (ser no obvia) o ser industrialmente aplicable no han sido examinadas respecto a:

- ☐ toda la solicitud internacional
- ☒ las reivindicaciones Nos. 71-73 con respecto a la aplicabilidad industrial

porque:

- ☒ dicha solicitud internacional, o dichas reivindicaciones Nos. 71-73 con respecto a la aplicabilidad industrial se relaciona con la siguiente materia objeto las cuales no requieren examen preliminar internacional (*especificar*):

ver hoja separada

- ☐ la descripción, reivindicaciones o dibujos (*indique elementos particulares a continuación*) o dichas reivindicaciones Nos. son tan imprecisas que no pudo formarse una opinión significativa (*especifique*):
- ☐ las reivindicaciones o dichas reivindicaciones Nos. están sustentadas tan inadecuadamente por la descripción que no pudo formarse una opinión significativa.
- ☐ no se ha establecido un reporte de búsqueda internacional para dichas reivindicaciones Nos.
- ☐ Una opinión no puede ser dada sin la lista de secuencias; el solicitante no lo hizo en el tiempo límite prescrito:
- ☐ Proporciona una lista de secuencias que cumpla con el estándar provisto por el anexo C de las instrucciones administrativas, y dicha lista no estaba disponible para la autoridad de búsqueda internacional en una forma o manera no aceptable para esto.
- ☐ Proporciona una lista de secuencias en forma electrónica que cumpla con el estándar provisto por el anexo C de las instrucciones administrativas y dicha lista no estaba disponible para la autoridad de búsqueda internacional en una forma o manera no aceptable para esto.
- ☐ Paga el costo por el requerimiento de una lista de secuencias en respuesta a la invitación bajo las reglas 13ter.1(a) o (b)
- ☐ Una opinión valida no puede ser formada sin las tablas relacionadas a la lista de secuencias; el solicitante no proporcionó, en el tiempo prescrito, dichas tablas en forma electrónica que cumple con los requerimientos provistos por el anexo C-bis de las instrucciones administrativas y dicha lista no estaba disponible para la autoridad de búsqueda internacional en una forma o manera no aceptable para esto.
- ☐ las tablas relacionadas con el nucleótido y/o lista de secuencia aminoácida, si están en formato legible por computador únicamente, no cumplen con los requerimientos técnicos proporcionados en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.
- ☐ Ver la hoja separada para más detalles

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>1-79</u>
	No: Reivindicaciones	
Nivel Inventivo (IS)	Si : Reivindicaciones	<u>1-79</u>
	No: Reivindicaciones	
Aplicabilidad Industrial (IA)	Si : Reivindicaciones	<u>1-70, 74-79</u>
	No: Reivindicaciones	

2. Citaciones y explicaciones (Regla 70.7)

ver hoja separada

CASILLA No. VII Ciertos defectos en la solicitud internacional

Los siguientes defectos en la forma o contenidos de la solicitud internacional han sido encontrados:

ver hoja separada

CASILLA No. VIII Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional

Las siguientes observaciones sobre la claridad de las reivindicaciones, la descripción, y los dibujos o sobre la pregunta si las reivindicaciones están satisfactoriamente soportadas por la descripción, son formuladas:

ver hoja separada

Re Ítem III.

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

1. Las reivindicaciones 71-73 que se relacionan con el presente asunto son consideradas por esta Autoridad por estar comprendidas en las disposiciones de la Regla-67.1 (iv) PCT. En consecuencia, no se formulará opinión con respecto a la aplicación industrial de las reivindicaciones del presente asunto. (Artículo 34(4) (a) (I) PCT).

Re Ítem V.

Afirmación razonada con respecto a la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial, menciones y explicaciones que apoyan tal afirmación

Se hace referencia a los siguientes documentos:

D1: WO 02/00249 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A.) enero 3 de 2002 (2002-01-03)
mencionado en la solicitud

D2: EDA TAMM ET AL.: "Estudio de doble deslumbramiento comparando la inmunogenicidad de una vacuna conjugada DtwPHib (Quattvaxem) licenciada con tres formulaciones líquidas que surgen de una investigación usando dosis bajas de Hib-CRM197 conjugadas" VACUNA, vol. 23, febrero de 2005 (2005-02), páginas 1715-1719, XP004739805

1. La presente solicitud se relaciona con una composición inmunogénica comprendiendo un sacárido Bih conjugado y por lo menos dos conjugados sacáridos adicionales, en donde el conjugado Bih está presente en una dosis menor que la dosis menor del sacárido de las conjugaciones bacteriales adicionales. Las reivindicaciones 1-79 son novedosas y cumplen con los requerimientos del artículo 33(2) PCT.

2. El documento D1 describe una composición inmunogénica comprendiendo TT, DT, Pw y Bih, en donde Bih está presente en una dosis menor de la usual (página 6, línea 23 – página 7, línea 6). El efecto de disminuir la dosis Bih en una vacuna conjugada de sacárido Bih, es, sin embargo, no discutida. D1 también muestra combinación de vacunas de Bih conjugadas con por lo menos otros dos antígenos polisacáridos conjugados (página 7, línea 7 – página

8, línea 6). Las bacterias polisacáridos adicionales pueden ser escogidas como se enumera en la página 8, líneas 18-33. Los ejemplos muestran combinaciones de Bih conjugados con otras bacterias sacáridos conjugadas en la misma dosis. A la luz del arte anterior el problema para ser resuelto consiste en la optimización de la dosis de la vacuna que comprende Bih y otros conjugados de sacáridos bacterianos.

2.1 El documento D2 evalúa la seguridad e inmunogenicidad de cuatro vacunas DT-wP-Bih comprendiendo, respectivamente, 10, 5, 2.5 o 1.25 ug de conjugado Bih. D2 intenta como la presente solicitud, optimizar las dosis en vacunas de combinación para alcanzar inmunogenicidad a una dosis menor (página 1716, columna izquierda, párrafo 2-4). D2 concluye que la dosis de Bih conjugado se puede reducir tan bajo como 1.25 ug mientras se mantiene la inmunogenicidad de la vacuna (página 1718, columna izquierda, párrafo 2- página 1719, columna izquierda, párrafo 4). También se afirma en el D2 que estudios adicionales con otros antígenos son requeridos para confirmar los resultados (página 1719, columna izquierda, último párrafo).

2.2 Ni D1 ni D2 muestra o sugiere que al disminuir la dosis Bih en una composición de conjugados de sacáridos inmunogénico puede mejorar la inmunogenicidad de todos los componentes. Este efecto se muestra para las composiciones reivindicadas en los Ejemplos de la presente solicitud. Por lo tanto, se considera que las reivindicaciones 1-79 involucran un nivel inventivo de acuerdo con el Artículo 33(3) PCT.

3. Para la valoración de las presentes reivindicaciones 71-79 en la pregunta sobre si son industrialmente aplicables, no existe un criterio unificado de los Países Contratantes del PCT. La patentabilidad también dependerá de la formulación de las reivindicaciones. La EPO, por ejemplo, no reconoce como industrialmente aplicable el presente asunto de reivindicaciones para el uso de un compuesto en el tratamiento médico, pero puede permitir, sin embargo, reivindicaciones para un compuesto conocido por el primer uso en el tratamiento médico y el uso de tal compuesto para la fabricación de un medicamento para un nuevo tratamiento médico.

RE Item VII

Ciertos defectos en la solicitud internacional

1. Afirmaciones generales en la descripción (página 17, líneas 22-23) que implican que la extensión de la protección se puede expandir de una manera que no es definida de manera precisa no son permisibles.

RE Item VIII

Ciertas observaciones en la solicitud internacional

1. Reivindicaciones dependientes 16-21 son formuladas como dependientes de la reivindicación 15, “cuando dependen de la reivindicación 3”. Esta dependencia condicional emite el alcance de las reivindicaciones de manera no clara, contrario al Artículo 6 PCT.

2. Reivindicaciones 34, 49 y 68 incluyen rasgos opcionales que no tienen ningún efecto limitante en el alcance de las reivindicaciones. La supresión de estos rasgos podría mejorar la claridad de las reivindicaciones como se exige de acuerdo con el Artículo 6 PCT.

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/VB61471	FOR FURTHER ACTION		See Form PCT/PEA/416
International application No. PCT/EP2006/006210	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>7</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 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 607 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 2007-03-22		Date of completion of this report 15.06.2007	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016		Authorized officer MONTERO LOPEZ, B Telephone No. +31 70 340-3739 	

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/EP2006/006210

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

1-39 as originally filed

Claims, Numbers

1-79 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/EP2006/006210

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. 71-73 with respect to industrial applicability

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 71-73 with respect to 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 13*ter*.1(a) or (b) and 13*ter*.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/EP2006/006210

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>1-79</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>1-79</u>
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-70, 74-79</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

Box No. VII Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

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

see separate sheet

Re Item III

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

1. Claims 71-73 relate 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 these 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

Reference is made to the following documents:

- D1: WO 02/00249 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A.) 3 January 2002 (2002-01-03) cited in the application
- D2: EDA TAMM ET AL.: "Double-blind study comparing the immunogenicity of a licensed DtwPHib-CRM197 conjugate vaccine (Quattvaxem) with three investigational, liquid formulations using lower doses of Hib-CRM197 conjugate" VACCINE, vol. 23, February 2005 (2005-02), pages 1715-1719, XP004739805

1. The present application relates to an immunogenic composition comprising a Hib saccharide conjugate and at least two further saccharide conjugates, wherein the Hib conjugate is present in a lower dose than the mean saccharide dose of the further bacterial conjugates. Claims 1-79 are novel and comply with the requirements of Article 33(2) PCT.

2. Document D1 describes an immunogenic composition comprising TT, DT, Pw and Hib, wherein Hib is present in a lower dose than usual (page 6, line 23 - page 7, line 6). The effect of lowering the Hib dose in a saccharide conjugate vaccine is, however, not discussed. D1 also shows combination vaccines of Hib conjugate with at least two other conjugated polysaccharide antigens (page 7, lines 7- page 8, line 6). The further bacterial

polysaccharides can be chosen as enumerated in page 8, lines 18-33. The examples show combinations of Hib conjugate with other bacterial saccharide conjugates in the same dose. In the light of the prior art the problem to be solved consists in the optimisation of the doses of a vaccine comprising Hib and other bacterial saccharide conjugates.

2.1. Document D2 evaluates the safety and immunogenicity of four DT-wP-Hib vaccines comprising, respectively, 10, 5, 2.5 or 1.25 µg of Hib conjugate. D2 attempts like the present application to optimise the doses in combination vaccines to achieve immunogenicity at a lower dose (page 1716, col. left, par. 2-4). D2 concludes that the dose of Hib conjugate can be reduced as low as 1.25 µg while maintaining the immunogenicity of the vaccine (page 1718, col. left, par. 2 - page 1719, col. left, par. 4). It is further stated in D2 that further studies with other antigens are needed to confirm the results (page 1719, col. left, last par.).

2.2. Neither D1 nor D2 show or suggest that lowering the Hib dose in a saccharide conjugate immunogenic composition may improve the immunogenicity of all the components. This effect is shown for the claimed compositions in the Examples of the present application. Therefore, it is considered that claims 1-79 involve an inventive step in accordance with Article 33(3) PCT.

3. For the assessment of the present claims 71-79 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Re Item VII

Certain defects in the international application

1. General statements in the description (page 17, lines 22-23) which imply that the extent of protection may be expanded in a not precisely defined way are not allowable.

Re Item VIII

Certain observations on the international application

1. Dependent Claims 16-21 are formulated as dependent on claim 15, "when dependent on claim 3". This conditional dependency renders the scope of the claims unclear, contrary to Article 6 PCT.

2. Claims 34, 49 and 68 include optional features which do not have any limiting effect in the scope of the claims. The deletion of these features would improve the clarity of the claims as requested according to Article 6 PCT.

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES

De la
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Para: Ver forma PCT/ISA/220		PCT OPINION ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BUSQUEDA 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/EP2006/006210	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																											
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; citas 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; citas 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; citas 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 de Patentes Europea-P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk-Pays Bas Tel. +31 70 340-2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340-3016		Fecha de finalización de esta opinión ver forma PCT/ISA/210	Funcionario Autorizado MONTERO LOPEZ, B Teléfono No.+31 70 340-3739																								

Casilla No. I Bases de la opinión

1. Respecto al idioma, esta opinión se ha establecido con base en:
☒ La solicitud internacional en el idioma en el cual se presentó
☐ Una traducción de la solicitud internacional al, que es el lenguaje de una traducción entregada para propósitos de la 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. II Prioridad

1. ☒ La validez de la prioridad reivindicada no se ha considerado porque la Autoridad de la Búsqueda Internacional no tiene en su poder una copia de la solicitud anterior cuya prioridad ha sido reivindicada o, donde sea requerida, una traducción de la solicitud anterior. Esta opinión sin embargo se ha establecido sobre el supuesto de que la fecha relevante (Reglas 43bis.1 y 64.1) es la fecha de la prioridad reivindicada.
2. ☐ Se ha establecido esta opinión como si no se hubiese reivindicado ninguna prioridad debido al hecho de que se ha encontrado que la reivindicación de prioridad es inválida (Reglas 43bis.1 y 64.1). Por consiguiente, para los fines de esta opinión, se considera que la fecha de registro internacional indicada anteriormente es la fecha relevante.
3. Observaciones adicionales, si es necesario:

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

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

- ☐ toda la solicitud internacional,
☒ reivindicaciones Nos. 71-73 con respecto a la aplicabilidad industrial

porque:

- ☒ dicha solicitud internacional, o dichas reivindicaciones Nos. 71-73 con respecto a la aplicabilidad industrial se relacionan con la siguiente materia objeto que no requiere un examen preliminar internacional (*especifique*):
ver hoja separada
- ☐ la descripción, reivindicaciones o dibujos (*indique elementos particulares a continuación*) o dichas reivindicaciones Nos. son tan imprecisas que no pudo formarse una opinión significativa (*especifique*):
- ☐ 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 la solicitud completa o para dichas reivindicaciones Nos.
- ☐ no fue posible formarse una opinión significativa sin la lista de secuencias; el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no:
- ☐ presentó una lista de secuencias en papel cumpliendo con el estándar presentado en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y dicha lista no estaba disponible a la Autoridad de Búsqueda Internacional en un formato y manera aceptable a ella.
 - ☐ presentó una lista de secuencias en formato electrónico cumpliendo con el estándar presentado en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y dicha lista no estaba disponible a la Autoridad de Búsqueda Internacional en un formato y manera aceptable a ella.
 - ☐ pagó los derechos de presentación tardía requeridos para la presentación de una lista de secuencias en respuesta a una invitación bajo las Reglas 13ter.1(a) o (b).
- ☐ no fue posible formarse una opinión significativa sin las tablas relacionadas con la lista de secuencias; el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no presentó dichas tablas en formato electrónico cumpliendo con los requerimientos técnicos presentados en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas, y dichas tablas no estaban disponibles a la Autoridad de Búsqueda Internacional en un formato y manera aceptable a ella.
- ☐ las tablas relacionadas con la lista de secuencias nucleótidas y/o amino ácidas, si están en formato electrónico únicamente, no cumplen con los requerimientos técnicos presentados en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.
- ☐ Ver la Casilla Suplementaria para más detalles

OPINION ESCRITA DE LA
AUTORIDA DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

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

1. Afirmación

Novedad (N)	Si :	Reivindicaciones 1-79
	No:	Reivindicaciones
Nivel Inventivo (IS)	Si :	Reivindicaciones
	No:	Reivindicaciones 1-79
Aplicabilidad Industrial (IA)	Si :	Reivindicaciones 1-70,74-79
	No:	Reivindicaciones

2. Citas y Explicaciones

ver hoja separada

CASILLA No. VII Ciertos defectos en la solicitud internacional

Los siguientes defectos en la forma o contenidos de la solicitud internacional han sido encontrados:

ver hoja separada

CASILLA No. VIII Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional

Las siguientes observaciones sobre la claridad de las reivindicaciones, la descripción, y los dibujos o sobre la pregunta si las reivindicaciones están satisfactoriamente soportadas por la descripción, son formuladas:

ver hoja separada

Re Item III.

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

1. Las reivindicaciones 71-73 que se relacionan con el presente asunto son consideradas por esta Autoridad por estar comprendidas en las disposiciones de la Regla-67.1 (iv) PCT. En consecuencia, no se formulará opinión con respecto a la aplicación industrial de las reivindicaciones del presente asunto. (Artículo 34(4) (a) (I) PCT).

Re Ítem V.

Afirmación razonada con respecto a la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial, menciones y explicaciones que apoyan tal afirmación

Se hace referencia a los siguientes documentos:

D1: WO 02/00249 A (SMITHKLINE BEECHAM BILOGICALS S.A.) enero 3 de 2002 (2002-01-03) mencionado en la solicitud

D2: EDA TAMM ET AL.: Estudio de doble deslumbramiento comparando la inmunogenicidad de una vacuna conjugada DtwPHib (Quattvaxem) licenciada con tres formulaciones líquidas que surgen de una investigación usando dosis bajas de Hib-CRM197 conjugadas" VACUNA, vol. 23, febrero de 2005 (2005-02), páginas 1715-1719, XP004739805

1. La presente solicitud se relaciona con una composición inmunogénica comprendiendo un sacárido Bih conjugado y por lo menos dos conjugados sacáridos adicionales, en donde el conjugado Bih está presente en una dosis menor que la dosis menor del sacárido de las conjugaciones bacteriales adicionales. Las reivindicaciones 1-79 son novedosas y cumplen con los requerimientos del artículo 33(2) PCT.

2. El documento D1 describe una composición inmunogénica comprendiendo TT, DT, Pw e Bih, en donde Bih está presente en una dosis menor que la usual (página 6, línea 23 – página 7, línea 6). D1 también muestra combinación de vacunas de Bih conjugadas con por lo menos otros dos antígenos polisacáridos conjugados (página 7, línea 7 – página 8, línea 6). Las bacterias polisacáridas adicionales pueden ser escogidas como se enumera en la página 8, líneas 18-33. Los ejemplos muestran

combinaciones de Bih conjugados con otras bacterias sacáridas conjugadas en la misma dosis. A la luz del arte anterior el problema para ser resuelto consiste en la optimización de la dosis de la composición inmunogénica descrita en D1.

2.1 El documento D2 evalúa la seguridad e inmunogenicidad de cuatro vacunas DT-wP-Bih comprendiendo, respectivamente, 10, 5, 2.5 o 1.25 ug de conjugado BIH. D2 intenta como la presente solicitud, optimizar las dosis en vacunas en combinación para alcanzar inmunogenicidad a una dosis menor (página 1716, columna izquierda, párrafo 2-4). D2 concluye que la dosis de Bih conjugado se puede reducir tan bajo como 1.25 ug mientras se mantiene la inmunogenicidad de la vacuna (página 1718, columna izquierda, párrafo 2- página 1719, columna izquierda, párrafo 4). También se afirma en el D2 que estudios adicionales con otros antígenos son requeridos para confirmar los resultados (página 1719, columna izquierda, último párrafo). La persona calificada sería entonces inducida, para efectos de resolver el problema planteado, para disminuir la dosis de Vih conjugado en las vacunas combinadas descritas en D1, llegando de esta manera a la composición inmunogénica reivindicada. La Reivindicación 1, por lo tanto, no involucra un nivel inventivo y no cumple con los requerimientos del Artículo 33(3) PCT.

2.2 Las reivindicaciones dependientes 2-79, relacionadas solamente con incorporaciones triviales, estándar, no contienen ningún rasgo, que en combinación con los rasgos de cualquier reivindicación a la cuales ellas se refieren, cumplen con los requisitos del PCT con respecto al nivel inventivo (Artículo 33(3) PCT).

- 3 Para la valoración de las presentes reivindicaciones 71-79 en la pregunta sobre si son industrialmente aplicables, no existe un criterio unificado de los Países Contratantes del PCT. La patentabilidad también dependerá de la formulación de las reivindicaciones. La EPO, por ejemplo, no reconoce como industrialmente aplicable el presente asunto de reivindicaciones para el uso de un compuesto en el tratamiento médico, pero puede permitir, sin embargo, reivindicaciones para un compuesto conocido por el primer uso en el tratamiento médico y el uso de tal compuesto para la fabricación de un medicamento para un nuevo tratamiento médico.

RE Item VII

Ciertos defectos en la solicitud internacional

1. Afirmaciones generales en la descripción (página 17, líneas 22-23) que implican que la extensión de la protección se puede expandir de una manera que no es definida de manera precisa no son permisibles.

RE Item VIII

Ciertas observaciones en la solicitud internacional

1. Reivindicaciones dependientes 16-21 son formuladas como dependientes de la reivindicación 15, "cuando dependen de la reivindicación 3". Esta dependencia condicional emite el alcance de las reivindicaciones de manera no clara, contrario al Artículo 6 PCT.
2. Reivindicaciones 34, 49 y 68 incluyen rasgos opcionales que no tienen ningún efecto limitante en el alcance de las reivindicaciones. La supresión de estos rasgos podría mejorar la claridad de las reivindicaciones como se exige de acuerdo con el Artículo 6 PCT.

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

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/EP2006/006210

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

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 - P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas
Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl
Fax: +31 70 340 - 3016

Date of completion of
this opinion

See form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

MONTERO LOPEZ, B

Telephone No. +31 70 340-3739



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2006/006210

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. II Priority

1. ☒ The validity of the priority claim has not been considered because the International Searching Authority does not have in its possession a copy of the earlier application whose priority has been claimed or, where required, a translation of that earlier application. This opinion has nevertheless been established on the assumption that the relevant date (Rules 43*bis*.1 and 64.1) is the claimed priority date.
2. ☐ This opinion has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rules 43*bis*.1 and 64.1). Thus for the purposes of this opinion, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.
3. Additional observations, if necessary:

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. 71-73 with respect to industrial applicability

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 71-73 with respect to 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 13*ter*.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	1-79
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-79
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-70, 74-79
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VII Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

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

see separate sheet

Re Item III

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

1. Claims 71-73 relate 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 these 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

Reference is made to the following document:

- D1: WO 02/00249 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A.) 3 January 2002 (2002-01-03) cited in the application
- D2: EDA TAMM ET AL.: "Double-blind study comparing the immunogenicity of a licensed DtwPHib-CRM197 conjugate vaccine (Quattvaxem) with three investigational, liquid formulations using lower doses of Hib-CRM197 conjugate" VACCINE, vol. 23, February 2005 (2005-02), pages 1715-1719, XP004739805

1. The present application relates to an immunogenic composition comprising a Hib saccharide conjugate and at least two further saccharide conjugates, wherein the Hib conjugate is present in a lower dose than the mean saccharide dose of the further bacterial conjugates. Claims 1-79 are novel and comply with the requirements of Article 33(2) PCT.

2. Document D1 describes an immunogenic composition comprising TT, DT, Pw and Hib, wherein Hib is present in a lower dose than usual (page 6, line 23 - page 7, line 6). D1 also shows combination vaccines of Hib conjugate with at least two other conjugated polysaccharide antigens (page 7, lines 7- page 8, line 6). The further bacterial polysaccharides can be chosen as enumerated in page 8, lines 18-33. The examples show

combinations of Hib conjugate with other bacterial saccharide conjugates in the same dose. In the light of the prior art the problem to be solved consists in the optimisation of the doses of the immunogenic composition described in D1.

2.1. Document D2 evaluates the safety and immunogenicity of four DT-wP-Hib vaccines comprising, respectively, 10, 5, 2.5 or 1.25 µg of Hib conjugate. D2 attempts like the present application to optimise the doses in combination vaccines to achieve immunogenicity at a lower dose (page 1716, col. left, par. 2-4). D2 concludes that the dose of Hib conjugate can be reduced as low as 1.25 µg while maintaining the immunogenicity of the vaccine (page 1718, col. left, par. 2 - page 1719, col. left, par. 4). It is further stated in D2 that further studies with other antigens are needed to confirm the results (page 1719, col. left, last par.). The skilled person would therefore be prompted, in order to solve the problem posed, to lower the dose of Hib conjugate in the combination vaccines described in D1, thereby arriving at the claimed immunogenic composition. Claim 1, therefore, does not involve an inventive step and does not comply with the requirements of Article 33(3) PCT.

2.2. Dependent claims 2-79, relating only to standard, trivial embodiments, do not contain any features which, in combination with the features of any claim to which they refer, meet the requirements of the PCT in respect of inventive step (Article 33(3) PCT).

3. For the assessment of the present claims 71-79 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Re Item VII

Certain defects in the international application

1. General statements in the description (page 17, lines 22-23) which imply that the extent of protection may be expanded in a not precisely defined way are not allowable.

Re Item VIII

Certain observations on the international application

1. Dependent Claims 16-21 are formulated as dependent on claim 15, "when dependent on claim 3". This conditional dependency renders the scope of the claims unclear, contrary to Article 6 PCT.
2. Claims 34, 49 and 68 include optional features which do not have any limiting effect in the scope of the claims. The deletion of these features would improve the clarity of the claims as requested according to Article 6 PCT.



Double-blind study comparing the immunogenicity of a licensed DTwPHib-CRM197 conjugate vaccine (Quallvaxem™) with three investigational, liquid formulations using lower doses of Hib-CRM197 conjugate

Eida Tammi^a, Alessandra Veronese^b, Mario Contorni^c, Sirli Meriste^a,
Pantaleo Nacci^{b,*,4}, Simonetta Viviani^{b,1}

^a *Tartu University Children's Hospital, Outpatients Department, Oula-Su 3, 51014 Tartu, Estonia*

^b *Clinical Research and Medical Affairs, Chiron S.r.l., Via Fiorentina 1, 53100 Siena, Italy*

^c *Process Development, Chiron S.r.l., Via Fiorentina 1, 53100 Siena, Italy*

Received 4 May 2003; received in revised form 21 September 2003; accepted 30 September 2003

Available online 2 November 2003

Abstract

We performed a double-blind clinical study to evaluate the safety and immunogenicity of four formulations of a DTwPHib full liquid vaccine, three of which contained fractional doses of the 10 µg dose of CRM197-Hib conjugate vaccine.

A total of 261 infants were enrolled and randomised to receive at 3, 4 and 5 months of age, in a double-blind fashion, one of the four DTwPHib vaccine formulations containing 10, 5, 2.5 or 1.25 µg of CRM197-Hib conjugate. Post-immunization reactions were similar in the four vaccine groups, they were mild, transient and resolved without sequelae. The seroconversion rates to anti-PRP titres ≥ 0.15 µg/ml, were 100%, 98%, 97% and 98% in the groups 10, 5, 2.5 and 1.25 µg, respectively. The seroconversion rates to anti-PRP titres ≥ 1 µg/ml, were 95%, 97%, 88% and 90%, again respectively. Anti-PRP GMTs were 18, 17, 7.82 and 6.94 µg/ml, respectively. All subjects were protected against tetanus and diphtheria, and >80% seroconverted to pertussis.

High and similar levels of anti-PRP GMTs were elicited by the formulations with 10 and 5 µg of CRM197-Hib conjugate.

Although the formulations with 2.5 and 1.25 µg of CRM197-Hib elicited lower levels of anti-PRP GMTs, they were immunogenic and are possible candidates for further development.

© 2004 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Combined vaccines; Fractional doses; Hib vaccine; DTwPHib full liquid vaccine

1. Introduction

In countries where *Haemophilus influenzae* type b (Hib) conjugate vaccines have been introduced as part of the routine infant immunization schedule, a sharp decrease of invasive Hib disease has been observed [1,2]. WHO recommends,

therefore, the use of Hib conjugate vaccines in infants of those areas where Hib invasive disease is endemic [3]. Despite the fact that over the last 20 years the use of infant vaccines has sensibly increased worldwide [4], (e.g., DTP, measles) Hib conjugate vaccines still have a limited use in less developed countries where morbidity and mortality of Hib related diseases is the highest [5]. In most of these countries Hib vaccines, or Hib combined vaccines are still expensive [6].

All Hib vaccines formulated as either monovalent or in combination with other antigens (D, T, aP, wP, HBV, etc.) contain 10 µg of conjugate polysaccharide, with the excep-

* Corresponding author. Tel.: +39 0577 243554.

fax: +39 0577 278443/243551.

E-mail address: pantaleo.nacci@chiron.com (P. Nacci).

¹ Present address: Clinical Research & Medical Affairs, Bernabroeth Ltd., Kellwegstrasse 79, CH-3018 Bern, Switzerland.

tion of a 7.5 µg-dose vaccine of *H. influenzae* type b conjugated to the outer membrane protein complex of *Neisseria meningitidis* group B (PRP-OMPC) [7].

Some studies have looked at the immunogenicity of reduced doses of Hib vaccines in order to reduce the amount of antigen, and optimise financial resources. These studies tested the immunogenicity of reduced doses of *H. influenzae* type b conjugated to tetanus toxoid protein (PRP-T) and of *H. influenzae* type b conjugated to the mutant diphtheria toxin CRM197 (HbOC) when compared with the conventional 10 µg dose, by diluting the licensed vaccine preparations extemporaneously in the field just before injection [8,9].

The extemporaneous mixing of vaccines causes variation in the individual doses administered and as a consequence, the assessment of immunogenicity especially of a low dose is imprecise.

To overcome this problem, Chiron Vaccines has developed different formulations of a DTwPIHib vaccine with reduced doses of Hib-CRM197 conjugate, all of them formulated as full liquid ready-to-use vaccine. We present here the results of a clinical study where different formulations of DTwPIHib vaccine were tested when compared with the licensed vaccine (Quivaxem™, Chiron Vaccines, Italy) [10].

2. Materials and methods

2.1. Study design and blinding

Between January and November 2000 three-month old infants, in good health, born at 37 weeks of gestation or later, with a minimum birth weight of 2500 g, and eligible for the local EPI were enrolled at the Outpatient Departments of Tartu Children Hospital (Oru str. 3, 51014 Tartu, Estonia), and at the Tallin Central Children's Hospital (Ravi str. 7, 10138 Tallin, Estonia). Subjects were randomised in a 1:1:1:1 ratio to receive i.m., in a double-blind fashion, three single doses of one of four formulations of DTwPIHib vaccine at 3, 4 and 5 months of age. The study was conducted according to Estonian Laws and Regulations, and in compliance with the Declarations of Helsinki and the relevant European Guidelines. Parents/legal guardians gave their written informed consent before infants were enrolled into the trial.

2.2. Vaccines

The reference (Quivaxem™, Chiron Vaccines, Italy) DTwPIHib full liquid vaccine (group D) contained, per 0.5 ml, dose: 15 LF of diphtheria toxoid, 15 OU of inactivated pertussis organisms, 3.2 I.U. of tetanus toxoid, 10 µg of Hib-CRM197 conjugate adjuvanted with aluminum phosphate (0.3 mg as Al³⁺), and 0.01% of merthiolate. The other formulations of DTwPIHib vaccines contained the same amount of components except for Hib conjugate antigen, which was respectively: 1.25 µg (group A); 2.5 µg (group B); 5 µg (group C).

In accordance with the local EPI, subjects received oral polio vaccine (OPV) at 2, 4 and 6 months of age.

2.3. Serological assays

Blood samples were obtained at baseline and one month after the third dose. IgG anti-PRP antibodies (µg/mL) were measured by a modified ELISA adapted from the FDA ELISA method [11].

IgG anti-diphtheria toxin antibodies (IU/mL) and IgG anti-tetanus toxin antibodies were quantified by in-house developed, validated ELISA.

The serological markers for *Bordetella pertussis*, anti-pertactin and anti-Aggl 2-3 were measured by using an in-house developed, validated ELISA. Both ELISA are calibrated using FDA standards.

The serological assays were performed at Chiron-Behring Laboratory, Marburg, Germany in a blinded fashion.

2.4. Safety evaluation

Subjects were monitored by study staff for 30 min after each vaccine dose. Parents/legal guardians were asked to record on a diary card the daily rectal temperature and local and systemic reactions for seven days following each injection. Additionally, study personnel actively contacted the parents/legal guardians by telephone on the second and seventh day following each vaccination to obtain details of adverse events, if any. Occurrence of all adverse events, of serious adverse events and of those necessitating physician visit and/or any medication were critically examined and recorded throughout the study duration. Subjects who received at least one vaccination were included in safety analyses.

2.5. Biostatistics

Two-sided *P*-values were calculated for each local and systemic reaction using Pearson chi-square test, with significance assessed at $\alpha = 0.05$.

Geometric mean titres before and after vaccination, post/pre-immunization geometric mean ratios and proportions of subjects achieving protective antibody levels against individual antigens, and associated 95% confidence intervals (CI) were calculated. All statistical analyses were conducted using SAS software version 8.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3. Results

3.1. Subjects demography

A total of 261 infants were enrolled in the study, of whom 66 were in group A and 65 each in groups B, C and D. The mean age at enrolment was 94 (range: 69–108) days and no difference was observed among the four vaccine groups in

terms of sex, race, weight and height distribution. A total of 260 subjects were included in the safety analyses (65 for each of the four vaccine groups), and 251 in the immunogenicity analyses (61 in group A, 64 each in groups B and C, and 62 in group D). Nine subjects did not complete the study as their parents/legal guardians withdrew their consent before study completion (5 subjects in group A, 1 subject in group B and 3 subjects in group D). None of them had any SAE reported.

3.2. Safety results

Local and systemic reactions were mostly mild and transient. The most frequent were tenderness, erythema and induration for local reactions, and irritability, sleepiness and unusual crying for systemic reactions (Table 1). No significant difference was observed among the four vaccine groups. All post-vaccination reactions resolved without sequelae. There were no serious adverse events reported as related to study vaccines.

3.3. Immunogenicity results: anti-PRP

The proportion of subjects with anti-PRP titres $\geq 0.15 \mu\text{g/mL}$, was similar in the four vaccine groups (Table 2). However, the proportion of subjects with anti-PRP titres $\geq 1.0 \mu\text{g/mL}$, was higher in groups C and D (97% and 95%, respectively), than in groups A and B (90% and 88%, respectively). Anti-PRP GMTs show a clear dose-response effect, being similar between groups A (6.94 $\mu\text{g/mL}$) and B (7.82 $\mu\text{g/mL}$), and between groups C (17 $\mu\text{g/mL}$) and D

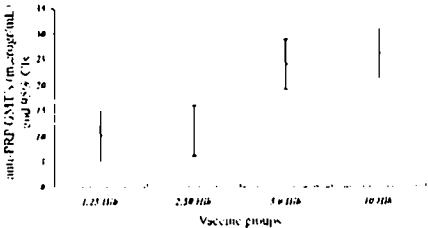


Fig. 1. GMTs and 95% CIs in the four vaccine groups.

(18 $\mu\text{g/mL}$), but significantly lower in groups A and B when compared with both C and D groups (Fig. 1).

3.4. Immunogenicity results: anti-diphtheria and anti-tetanus

One month after the third vaccination, all subjects in the four vaccine groups seroconverted to diphtheria and tetanus (antibody level $\geq 0.1 \text{ IU/mL}$). No appreciable differences were observed in GMTs among the four vaccine groups.

3.5. Immunogenicity results: anti-Pertactin and anti-Aggl 2-3

No differences were observed among the four vaccine groups in the proportion of subjects with a 2- or 4-fold in-

Table 1
Local and systemic reactions reported within 7 days following any of the three vaccinations in the four DTwD/Tb vaccine groups

Dist. vaccination reactions	Hib 1, 2.5 µg (N = 65) n (%)	Hib 2, 5 µg (N = 65) n (%)	Hib 5 µg (N = 65) n (%)	Hib 10 µg (N = 65) n (%)
Local				
Tenderness - any (Cried when injected limb was moved)	48 (74)	53 (82)	52 (80)	49 (75)
Erythema - any (≥50 mm)	31 (48)	29 (45)	37 (57)	31 (48)
Induration - any (≥50 mm)	27 (42)	21 (32)	25 (38)	24 (37)
Systemic				
Rash	3 (5)	4 (6)	3 (5)	3 (5)
Change in eating habits	20 (31)	16 (25)	26 (40)	27 (42)
Sleepiness	31 (48)	49 (75)	33 (51)	39 (60)
Unusual crying	29 (45)	23 (35)	32 (49)	29 (45)
Persistent crying	10 (15)	8 (12)	10 (15)	7 (11)
Irritability	47 (72)	53 (82)	50 (77)	49 (75)
Vomiting	5 (8)	6 (9)	9 (14)	7 (11)
Diarrhoea	17 (26)	24 (37)	22 (34)	18 (28)
Other				
Rectal temperature ≥38.5 °C in <40.5 °C	14 (22)	21 (32)	10 (15)	12 (18)
Use of analgesic/antipyretic medication	33 (51)	43 (66)	28 (43)	33 (51)

Table 2 Anti-PRP seroconversion rates, anti-pertussis (pertactin and Aggl 2–3) seroconversion rates and GMTs, and anti-tetanus and anti-diphtheria GMTs								
	Hib 1, 25 µg	Hib 2, 5 µg	Hib 5 µg	Hib 10 µg	Hib 1, 25 µg	Hib 2, 5 µg	Hib 5 µg	Hib 10 µg
Anti-PRP (µg/ml)	≥0.15 µg/ml N=59	≥0.10 µg/ml N=62	≥0.15 µg/ml N=60	≥0.10 µg/ml N=60	≥0.15 µg/ml N=60	≥0.10 µg/ml N=60	≥0.15 µg/ml N=56	≥0.10 µg/ml N=62
Pre								
% (n)	37 (28)	12 (7)	18 (30)	10 (6)	53 (32)	10 (6)	61 (33)	7 (4)
95% CI	33 (6)	5 (2)	35 (6)	4 (2)	40 (6)	3 (2)	37 (6)	2 (1)
N=61								
Post								
% (n)	98 (60)	90 (55)	97 (62)	88 (56)	98 (65)	97 (62)	100 (62)	95 (59)
95% CI	94 (100)	80 (96)	89 (100)	77 (94)	92 (100)	89 (100)	94 (100)	87 (99)
Anti-pertactin		N=51	N=58		N=58		N=51	
2-fold increment								
% (n)		91 (49)	95 (55)		88 (51)		93 (51)	
95% CI		80 (97)	86 (99)		77 (95)		85 (99)	
4-fold increment								
% (n)		80 (43)	83 (48)		78 (45)		89 (48)	
95% CI		66 (89)	71 (91)		65 (87)		77 (96)	
Anti-Aggl 2–3		N=51	N=59		N=58		N=56	
2-fold increment								
% (n)		81 (41)	81 (48)		83 (48)		80 (45)	
95% CI		69 (91)	69 (90)		71 (91)		68 (90)	
4-fold increment								
% (n)		70 (38)	80 (47)		78 (45)		71 (40)	
95% CI		56 (82)	67 (89)		65 (87)		58 (83)	
Anti-pertactin (µg/ml)		N=58	N=62		N=63		N=60	
Post								
GMT		19	21		21		20	
95% CI		(14–25)	(16–28)		(18–31)		(15–26)	
Anti-Aggl 2–3 (µg/ml)		N=60	N=61		N=61		N=62	
Post								
GMT		87	77		66		76	
95% CI		(56–134)	(51–118)		(33–101)		(39–116)	
Anti-tetanus (µg/ml)		N=60	N=63		N=61		N=61	
Post								
GMT		4.89	5.1		5.24		5.16	
95% CI		(4.11–5.82)	(4.3–6.05)		(4.42–6.2)		(4.34–6.14)	
Anti-diphtheria (µg/ml)		N=60	N=63		N=61		N=61	
Post								
GMT		1.33	1.65		1.49		1.7	
95% CI		(1.08–1.66)	(1.32–2.06)		(1.2–1.86)		(1.46–2.13)	

crease of anti-Pertactin and anti-Aggl 2–3 antibodies compared with baseline. GMTs among the four vaccine groups were also similar (Table 2).

4. Discussion

In this study, we found that all the four formulations of the DTwP11b vaccine were safe and immunogenic for all vaccine components.

With regards to anti-PRP GMTs, the reference formulation with 10 µg per dose was significantly more immunogenic than what observed in previous studies performed in infants vaccinated with either the same vaccine formulation [10] or with the monovalent Hib-CRM197 conjugate licensed vaccine (VaxentibTM) [13–15]. In the present study, with regards to anti-PRP GMTs the formulation containing 5 µg of Hib-CRM197 conjugate was as immunogenic as the reference formulation containing 10 µg (17 and 18 µg/ml, respectively). Despite the dose-effect response observed in the

present study between the 2.5 µg and the 5 µg formulations, the 1.25 µg and 2.5 µg formulations resulted immunogenic and with similar anti-PRP GMT level (6.94 and 7.82 µg/mL, respectively).

No dose-effect response was observed in any of the previous studies where reduced doses of Hib vaccine were tested. Hib-CRM197 conjugate vaccine was tested as monovalent full liquid vaccine in only one reduced-dose study. A full (10 µg), half and one-third dose were administered as a primary course in infants and similar anti-PRP GMTs were found among the vaccine groups [8]. PRP-T vaccine was tested in three studies [8,9,12]. In two studies reduced doses of PRP-T lyophilised vaccine were mixed with DTwP vaccine just before administration [9,12]. In all studies, reduced doses of either Hib-CRM197 conjugate vaccine or PRP-T vaccine were considered sufficiently immunogenic. As in all previous studies with reduced doses of Hib vaccines the individual doses were prepared in the field just before injection, the study design was either partially blinded or open [8,9,12]. Because the Chiron DTwPHib vaccine is formulated as full liquid in a ready-to-use vial, a double-blind design was adopted in the present study in order to minimise any bias that could have possibly arisen during the study.

To our knowledge this is the first double-blind study comparing the anti-PRP antibody response elicited by a licensed DTwPHib vaccine, with that of liquid, ready-to-use, investigational formulations containing lower than standard doses of Hib-CRM197 conjugate. When considering the preparation of reduced doses of Hib vaccines in the field, the full liquid formulation has obvious advantages. The amount of antigen administered to each individual is standardized, only one syringe is needed for administration, contamination due to multiple drawings from the same vial is avoided, no further training of EPI staff is required, and, finally, no impact on the vaccine supply chain is envisaged.

Our study confirms that the amount of Hib antigen can be reduced as low as 1.25 µg in an appropriate formulation containing whole cell Pertussis without affecting the immunogenicity of other vaccine components. The potential use of 1.25 µg of Hib-CRM197 conjugate vaccine per dose could drastically impact the widespread use of Hib vaccination, until now limited because of the unaffordable cost of Hib vaccines for less affluent countries.

We are aware that further evidence is needed to confirm the results of this study, and more development work will be pursued for that and for including in the formulation other antigens.

Acknowledgments

The study was supported with a grant from Chiron Vaccines, Italy. We are grateful to Michael Charles Penlington for critical review of the manuscript.

References

- [1] Heath PJ. *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines: a review of efficacy data. *Pediatr Infect Dis J* Sep 1998;17(9 Suppl):S11–22.
- [2] Pelola H. Worldwide *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21st century. Global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of the conjugates. *Clin Microbiol Rev* 2000;13: 302–17.
- [3] Global Programme for Vaccines and Immunization. The WHO position paper on *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines. *Weekly epidemiol record* 1998;73:61–8.
- [4] http://www.who.int/vaccine_surveillance/DataCharts.htm.
- [5] Wenger JD, Di Fabio H, Landaverde JM, Levine OS, Gustaf T. Introduction of Hib conjugate vaccines in the non-industrialized world: experience in four "newly adopting" countries. *Vaccine* 2000;18:146–52.
- [6] Bory R. Getting Hib vaccine to those who need it. *Lancet* 1998;351(9141):1446–7, May 16.
- [7] Petersen K, Bulkwos L, McMahon B, Wainwright R, Peters H. Immunogenicity of a combined hepatitis B and *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine in Alaska Native infants. *Int J Circumpolar Health* 1998;55(Suppl 1):285–92.
- [8] Tapro R, Valenzuela MT, Levine OS, Lewinsky GA, Uzun A, Wasserman SS, et al. Economisation of vaccination against *Haemophilus influenzae* type b: a randomised trial of immunogenicity of fractional-dose and two-dose regimen. *Lancet* 1998;351:1472–6.
- [9] Fernandez J, Ballester S, Lera J, Gomez E, Garib Z, Castellanos PL, et al. Randomized trial of the immunogenicity of fractional dose regimens of PRP-T *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine. *Am J Trop Med Hyg* 2000;62(4):485–90.
- [10] Reyes Asaad JT, Veronise A, Otero Del Carmen M, Pérez Tamara Desamparados M, Lopez Dominguez JL, Viviani S. Immunogenicity and safety in infants of a DTwPHib full liquid vaccine. *Acta Paediatr* 2003;92(5):541–5.
- [11] Marino M, Lura L, Proietti D, et al. A competitive enzyme-linked immunosorbent assay for measuring the levels of serum antibody to *Haemophilus influenzae* type b. *Clin Diagn Lab Immunol* 1998;5(5):667–74.
- [12] Neeb M, Huebner R, Meshup R, Káthy H, Mshelle N, Khono L, et al. *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine diluted tenfold in diphtheria tetanus whole cell pertussis vaccine: a randomized trial. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:138–41.
- [13] Kama G, Viviani S, Yildakot K, Özümti E, Anemona A, Yalçın S, et al. Safety, tolerability and immunogenicity of a *Haemophilus influenzae* type b vaccine containing aluminium phosphate adjuvant administered at 2, 3 and 4 months of age. *Turk J Pediatr* 1999;42: 421–7.
- [14] Kama G, Viviani S, Yildakot K, Özümti E, Anemona A, Yalçın S, et al. Effect of aluminium adjuvants on safety and immunogenicity of *Haemophilus influenzae* type b (CRM197) conjugate vaccine. *Pediatric Int* 2003;55:313–8.
- [15] Majila MJ, Probst HC, Hoesen AA, Benzhoof A, Viviani S, Blandini M, et al. Safety and immunogenicity of two *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines. *South Afr Med J* 2004;93: 43–6.

COMPOSICIÓN INMUNOGÉNICA

RESUMEN, OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

5 La presente solicitud da a conocer una composición
inmunogénica, la cual comprende un conjugado de sacárido de Hib y
cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales,
en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de
sacárido más baja que la dosis de sacárido promedio de todos los
10 cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.

15

20

25

COMPOSICIÓN INMUNOGÉNICA

La presente solicitud se refiere a composiciones inmunogénicas y a vacunas que comprenden un conjugado de sacárido Hib y cuando
5 menos dos conjugados de sacárido bacterianos adicionales, a procesos para elaborar estas composiciones inmunogénicas y vacunas, a usos y métodos de inmunización utilizando la composición inmunogénica y la vacuna.

Se ha demostrado que los polisacáridos bacterianos son
10 inmunógenos efectivos para utilizarse en vacunas, en particular cuando se conjugan con una proteína portadora. Hay vacunas conjugadas comerciales disponibles contra *Haemophilus influenzae* tipo b (Hibtiter® Wyeth-Lederle), polisacáridos neumocócicos (Prennar® –Wyeth-Lederle) y polisacáridos meningocócicos
15 (Meningitec® – Wyeth-Lederle and Menactra®- Sanofi).

También se han descrito composiciones inmunogénicas y vacunas que comprenden un conjugado de Hib y otros conjugados de sacáridos bacterianos. Por ejemplo, la Publicación Internacional Número WO 02/00249 da a conocer composiciones inmunogénicas
20 que comprenden un conjugado de Hib PRP y otros conjugados de polisacáridos u oligosacáridos, en donde los conjugados de polisacáridos no son adsorbidos sobre el adyuvante, en particular las sales de aluminio. Los resultados del estudio clínico presentados utilizan las mismas dosis de todos los polisacáridos bacterianos.

25 Choo y colaboradores, en *Pediatr. Infect. Dis. J.* (2000) 19;

854-62 describe la inoculación de niños pequeños con una vacuna de conjugado neumocócico 7-valente mezclada con una vacuna de conjugado de *Haemophilus influenzae* tipo b(hib) conocida como HbOC. La dosis del conjugado de hib administrada fue 5 veces más
5 alta que la dosis de cada uno de los conjugados de polisacárido neumocócico administrados.

La presente invención se refiere a la provisión de una vacuna de combinación, la cual comprende un conjugado de Hib y otros conjugados de sacáridos bacterianos, la cual es capaz de provocar
10 una mejor respuesta inmunogénica debido a la optimización de las dosis del conjugado de Hib y otros conjugados de polisacáridos bacterianos.

De conformidad con lo anterior, un primer aspecto de la invención proporciona una composición inmunogénica que
15 comprende un conjugado de sacárido de Hib y cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales, en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido más baja que la dosis de sacárido promedio de los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.

20 **Descripción Detallada**

La composición inmunogénica de la invención comprende un conjugado de sacárido de Hib y cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales, en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido más baja que la dosis de
25 sacárido promedio de los cuando menos dos conjugados de

sacáridos bacterianos adicionales. De una manera alternativa, el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido más baja que la dosis de sacárido de cada uno de los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales. Por ejemplo, la
5 dosis del conjugado de Hib puede ser de cuando menos el 10 por ciento, el 20 por ciento, el 30 por ciento, el 40 por ciento, el 50 por ciento, el 60 por ciento, el 70 por ciento o el 80 por ciento más baja que la dosis de sacárido promedio o más baja de los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.

10 El término "sacárido" incluye polisacáridos u oligosacáridos. Los polisacáridos se aíslan a partir de bacterias o se aíslan a partir de bacterias y se dimensionan hasta algún grado mediante métodos conocidos (véase, por ejemplo, las Patentes Europeas Números EP497524 y EP497525), y opcionalmente mediante microfluidización.
15 Los polisacáridos se pueden dimensionar con el objeto de reducir la viscosidad en muestras de polisacáridos y/o para mejorar la posibilidad de filtración para los productos conjugados. Los oligosacáridos tienen un bajo número de unidades de repetición (típicamente de 5 a 30 unidades de repetición), y son típicamente los
20 polisacáridos hidrolizados.

La "dosis promedio" se determina mediante la adición de las dosis de todos los polisacáridos adicionales, y dividiendo entre el número de polisacáridos adicionales. La "dosis" está en la cantidad de composición inmunogénica o vacuna que se administra a un ser
25 humano.

Los polisacáridos se dimensionan opcionalmente hasta 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 ó 20 veces desde el tamaño del polisacárido aislado de las bacterias.

“Dimensionado por un factor de hasta x2” significa que el polisacárido está sujeto a un proceso pretendido para reducir el tamaño del polisacárido, pero para retener un tamaño de más de la mitad del tamaño del polisacárido nativo. X3, x4 etc. se van a interpretar de la misma manera, es decir, el polisacárido está sujeto a un proceso pretendido para reducir el tamaño del polisacárido, pero para retener un tamaño mayor de una tercera parte, de una cuarta parte, etc., del tamaño del polisacárido nativo, respectivamente.

El tamaño del sacárido MenA es, por ejemplo, de 5-200kDa, 10-20kDa, 5-10kDa, 20-30kDa, 20-40kDa, 40-80kDa, 60-80kDa, 60-70kDa ó 70-80kDa.

El tamaño del sacárido MenC es, por ejemplo, de 5-200kDa, 10-20kDa, 5-10kDa, 5-15kDa, 20-50kDa, 50-100kDa, 100-150kDa, 150-210kDa.

El tamaño del sacárido MenW es, por ejemplo, de 5-200kDa, 10-20kDa, 5-10kDa, 20-50kDa, 50-100kDa, 100-150kDa ó 120-140kDa.

El tamaño del sacárido MenY es, por ejemplo, de 5-200kDa, 10-20kDa, 5-10kDa, 20-50kDa, 50-100kDa, 100-140kDa, 140-170kDa ó 150-160kDa, determinado mediante MALLS.

En una modalidad, la polidispersidad de los sacáridos es de 1-

1.5, 1-1.3, 1-1.2, 1-1.1 ó 1-1.05, y, después de la conjugación con una proteína portadora, la polidispersidad del conjugado es de 1.0-2.0. 1.0-1.5, 1.0-1.2 ó 1.5-2.0. Todas las mediciones de polidispersidad son mediante MALLS.

5 Para el análisis MALLS de los sacáridos meningocócicos, se pueden utilizar dos columnas (TSKG6000 y 5000PWxI TOSOH Bioscience) en combinación, y los sacáridos se eluyen en agua. Los sacáridos se detectan utilizando un detector de dispersión de luz (por ejemplo, Wyatt Dawn DSP equipado con un dispositivo de láser
10 de argón de 10 mW a 488 nanómetros), y un refractómetro interferométrico (por ejemplo, Wyatt Otilab DSP equipado con una celda P100 y un filtro rojo a 498 nanómetros).

Un sacárido de Hib es el polisacárido u oligosacárido capsular de fosfato de poli-ribosilo (PRP) de *Haemophilus influenzae* tipo b.

15 “Cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales” se refiere a cuando menos dos conjugados de sacáridos en donde los sacáridos son diferentes de Hib y uno del otro. Los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales se pueden derivar a partir de uno o más de *Neisseria meningitidis*,
20 *Streptococcus pneumoniae*, *Estreptococos* del Grupo A, *Estreptococos* del Grupo B, *S. typhi*, *Staphylococcus aureus* o *Staphylococcus epidermidis*. En una modalidad, la composición inmunogénica comprende polisacáridos u oligosacáridos capsulares derivados a partir de uno o más de los serogrupos A, B, C, W135 e
25 Y de *Neisseria meningitidis*. Una modalidad adicional comprende

polisacáridos u oligosacáridos capsulares derivados, a partir de
Streptococcus pneumoniae. Los antígenos de polisacáridos u
 oligosacáridos capsulares neumocócicos se seleccionan
 opcionalmente a partir de los serotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8,
 5 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y
 33F (por ejemplo a partir de los serotipos 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14,
 18C, 19F y 23F). Una modalidad adicional comprende los
 polisacáridos u oligosacáridos capsulares Tipo 5, Tipo 8 ó 336 de
Staphylococcus aureus. Una modalidad adicional comprende los
 10 polisacáridos capsulares Tipo I, Tipo II ó Tipo III de *Staphylococcus*
epidermidis. Una modalidad adicional comprende el sacárido Vi
 (oligosacárido poli-u) de *S. typhi*. Una modalidad adicional
 comprende los polisacáridos u oligosacáridos capsulares Tipo Ia,
 Tipo Ic, Tipo II ó Tipo III de Estreptococos del Grupo B. Una
 15 modalidad adicional comprende los polisacáridos u oligosacáridos
 capsulares de estreptococos del Grupo A, comprendiendo además
 opcionalmente cuando menos una proteína M o múltiples tipos de
 proteína M. En una modalidad, la composición inmunogénica de la
 invención comprende además un antígeno de *N. meningitidis*
 20 serogrupo B. El antígeno es opcionalmente un polisacárido capsular
 de *N. meningitidis* serogrupo B (MenB) o polisacárido u oligosacárido
 dimensionado derivado del mismo. El antígeno es opcionalmente una
 preparación de vesícula de membrana externa de *N. meningitidis*
 serogrupo B como se describe en las Patentes Números EP301992,
 25 WO 01/09350, WO 04/14417, WO 04/14418 y WO 04/14419.

En una modalidad, los cuando menos dos conjugados de
 sacáridos bacterianos adicionales comprenden opcionalmente el
 sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo C (MenC), sacáridos
 capsulares serogrupos C e Y (MenCY), sacáridos capsulares
 5 serogrupos C y A (MenAC), sacáridos capsulares serogrupos C y W
 (MenCW), sacárido capsular serogrupo A e Y (MenAY), sacáridos
 capsulares serogrupos A y W (MenAW), sacáridos capsulares
 serogrupos W e Y (Men WY), sacáridos capsulares serogrupos A, C y
 W (MenACW), sacáridos capsulares serogrupos A, C e Y (MenACY);
 10 sacáridos capsulares serogrupos A, W135 e Y (MenAWY), sacáridos
 capsulares serogrupos C, W135 e Y (MenCWY); o sacáridos
 capsulares serogrupos A, C, W135 e Y (MenACWY), sacáridos
 capsulares serogrupos B y C (MenBC), sacáridos capsulares
 serogrupos B, C e Y (MenBCY), sacáridos capsulares serogrupos B,
 15 C y A (MenABC), sacáridos capsulares serogrupos B, C y W
 (MenBCW), sacáridos capsulares serogrupos A, B e Y (MenABY),
 sacáridos capsulares serogrupos A, B y W (MenABW), sacáridos
 capsulares serogrupos B, W e Y (MenBWY), sacáridos capsulares
 serogrupos A, B, C y W (MenABCW), sacáridos capsulares
 20 serogrupos A, B, C e Y (MenABCY); sacáridos capsulares serogrupos
 A, B, W135 e Y (MenABWY), sacáridos capsulares serogrupos B, C,
 W135 e Y (MenBCWY); o sacáridos capsulares serogrupos A, B, C,
 W135 e Y (MenABCWY) .

La composición inmunogénica de la invención contiene
 25 opcionalmente el conjugado de sacárido de Hib en una dosis de

sacárido de entre 0.1 y 9 microgramos; de entre 1 y 5 microgramos, o de entre 2 y 3 microgramos, o de alrededor o exactamente 2.5 microgramos, y cada uno de los cuando menos dos conjugados de sacáridos adicionales en una dosis de entre 2 y 20 microgramos, de
5 entre 3 y 10 microgramos, o de entre 4 y 7 microgramos, o de alrededor o exactamente 5 microgramos.

“Alrededor” o “aproximadamente” se definen como dentro del 10 por ciento más o menos de la cifra dada para los propósitos de la invención.

10 La composición inmunogénica de la invención contiene una dosis de sacárido del conjugado de sacárido de Hib la cual es, por ejemplo, menor del 90 por ciento, del 80 por ciento, del 75 por ciento, del 70 por ciento, del 60 por ciento, del 50 por ciento, del 40 por ciento, del 30 por ciento, del 20 por ciento o del 10 por ciento de
15 la dosis de sacárido promedio de los cuando menos dos conjugados de sacáridos adicionales. La dosis de sacárido del sacárido de Hib es, por ejemplo, de entre el 20 por ciento y el 60 por ciento, de entre el 30 por ciento y el 60 por ciento, de entre el 40 por ciento y el 60 por ciento, o de alrededor o exactamente el 50 por ciento de la dosis
20 de sacárido promedio de los cuando menos dos conjugados de sacáridos adicionales.

La composición inmunogénica de la invención contiene una dosis de sacárido del conjugado de sacárido de Hib, la cual es, por ejemplo, menor del 90 por ciento, del 80 por ciento, del 75 por
25 ciento, del 70 por ciento, del 60 por ciento, del 50 por ciento, del 40

por ciento, del 30 por ciento, del 20 por ciento o del 10 por ciento de la dosis de sacárido más baja de los cuando menos dos conjugados de sacáridos adicionales. La dosis de sacárido del sacárido de Hib es, por ejemplo, de entre el 20 por ciento y el 60 por ciento, de entre
 5 el 30 por ciento y el 60 por ciento, de entre el 40 por ciento y el 60 por ciento, o de alrededor o exactamente el 50 por ciento de la dosis de sacárido más baja de los cuando menos dos conjugados de sacáridos adicionales.

En una modalidad de la invención, la dosis de cada uno de los
 10 dos o más sacáridos adicionales es opcionalmente la misma, o aproximadamente la misma.

Los ejemplos de las composiciones inmunogénicas de la invención son composiciones que consisten en, o que comprenden:

Un conjugado de Hib y un conjugado de MenA y un conjugado
 15 de MenC, opcionalmente en proporciones de dosis de sacáridos 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 (peso/peso). Opcionalmente, la dosis de sacárido de MenA es mayor que la dosis de sacárido de MenC.

Un conjugado de Hib y un conjugado de MenC y un conjugado
 20 de MenY, opcionalmente en proporciones de dosis de sacáridos 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 (peso/peso). Opcionalmente, la dosis de sacárido de MenC es mayor que la dosis de sacárido de MenY.

Un conjugado de Hib y un conjugado de MenC y un conjugado
 25 de MenW, opcionalmente en proporciones de dosis de sacáridos 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 (peso/peso). Opcionalmente la dosis de sacárido de MenC es mayor que la dosis de sacárido de MenW.

5 Un conjugado de Hib y un conjugado de MenA y un conjugado de MenW, opcionalmente en proporciones de dosis de sacáridos 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 (peso/peso). Opcionalmente, la dosis de sacárido de MenA es mayor que la dosis de sacárido de MenW.

10 Un conjugado de Hib y un conjugado de MenA y un conjugado de MenY, opcionalmente en proporciones de dosis de sacáridos 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 (peso/peso). Opcionalmente la dosis de sacárido de MenA es mayor que la dosis de sacárido de MenY.

15 Un conjugado de Hib y un conjugado de MenW y un conjugado de MenY, opcionalmente en proporciones de dosis de sacáridos 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 (peso/peso). Opcionalmente la dosis de sacárido de MenY es mayor que la dosis de sacárido de MenW.

20 Hib y los cuando menos dos sacáridos adicionales incluidos en las composiciones farmacéuticas de la invención se conjugan con una proteína portadora, tal como toxoide de tétanos, fragmento C de toxoide de tétanos, mutantes no tóxicos de toxina de tétanos, toxoide de difteria, CRM197, otros mutantes no tóxicos de toxina de difteria [tales como CRM176, CRM 197, CRM228, CRM 45 (Uchida y
25 colaboradores, J. Biol. Chem. 218; 3838-3844, 1973); CRM 9, CRM

45, CRM102, CRM 103 y CRM107 y otras mutaciones descritas por Nicholls y Youle en *Genetically Engineered Toxins*, Editor: Frankel, Maecel Dekker Inc, 1992; supresión o mutación desde Glu-148 hasta Asp, Gln o Ser y/o Ala 158 hasta Gly, y otras mutaciones que se dan a conocer en las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números US 4709017 o US 4950740; mutación de cuando menos uno o más residuos Lys 516, Lys 526, Phe 530 y/o Lys 534 y otras mutaciones que se dan a conocer en las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números US 5917017 o US 6455673; o el fragmento que se da a conocer en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 5843711], neumolisina neumocócica, OMPC (proteína de membrana externa meningocócica – usualmente extraída de *N. meningitidis* serogrupo B – Patente Europea Número EP0372501), péptidos sintéticos (Patentes Europeas Números EP0378881 y EP0427347), proteínas de choque por calor (Publicaciones Internacionales Números WO 93/17712 y WO 94/03208), proteínas de tosferina (Publicación Internacional Número WO 98/58668, Patente Europea Número EP0471177), citoquinas, linfocinas, factores de crecimiento u hormonas (Publicación Internacional Número WO 91/01146), proteínas artificiales que comprenden múltiples epítomos de células T CD4+ humanos a partir de diferentes antígenos derivados de patógenos (Falugi y colaboradores (2001) *Eur. J. Immunol.* 31; 3816-3824) tales como proteína N19 (Baraldoi y colaboradores (2004) *Infect. Immun.* 72; 4884-7), proteína superficial neumocócica PspA (Publicación

Internacional Número WO 02/091998), neumolisina (Kuo y colaboradores (1995) Infect. Immun. 63; 2706-13), proteínas de absorción de hierro (Publicación Internacional Número WO 01/72337), toxina A o B de *C. difficile* (Publicación Internacional
 5 Número WO 00/61761) o Proteína D (Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US6342224).

En una modalidad, la composición inmunogénica de la invención utiliza la misma proteína portadora (independientemente seleccionada) en el conjugado de Hib y los cuando menos dos
 10 conjugados de sacáridos bacterianos adicionales, opcionalmente en el conjugado de Hib y cada uno de los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales (por ejemplo, todos los otros conjugados de sacáridos presentes en la composición inmunogénica).

15 En una modalidad, la composición inmunogénica opcionalmente comprende un conjugado de sacárido de Hib y un conjugado de polisacárido de MenA, un conjugado de sacárido de Hib y un conjugado de polisacárido de MenC, un conjugado de sacárido de Hib y un conjugado de polisacárido de MenW, un conjugado de
 20 sacárido de Hib y un conjugado de polisacárido de MenY, un conjugado de sacárido de Hib y conjugados de polisacáridos de MenA y MenC, un conjugado de sacárido de Hib y conjugados de polisacáridos de MenA y MenW, un conjugado de sacárido de Hib y conjugados de polisacáridos de MenA y MenY, un conjugado de
 25 sacárido de Hib y conjugados de polisacáridos de MenC y MenW, un

conjugado de sacárido de Hib y conjugados de polisacáridos de MenC y MenY, un conjugado de sacárido de Hib y conjugados de polisacáridos de MenW y MenY, un conjugado de sacárido de Hib y conjugados de polisacáridos de MenA, MenC y MenW, un conjugado
 5 de sacárido de Hib y conjugados de polisacáridos de MenA, MenC y MenY, un conjugado de sacárido de Hib y conjugados de polisacáridos de MenA, MenW y MenY, un conjugado de sacárido de Hib y conjugados de polisacáridos de MenC, MenW y MenY, o un conjugado de sacárido de Hib y conjugados de polisacáridos de
 10 MenA, MenC, MenW y MenY.

En una modalidad, una sola proteína portadora puede llevar más de un antígeno de sacárido (Publicación Internacional Número WO 04/083251). Por ejemplo, una sola proteína portadora se podría
 15 conjugar con Hib y MenA, Hib y MenC, Hib y MenW, Hib y MenY, MenA y MenC, MenA y MenW, MenA y MenY, MenC y MenW, MenC y MenY, o Men W y MenY.

En una modalidad, la composición inmunogénica de la invención comprende un sacárido de Hib conjugado con una proteína portadora seleccionada a partir del grupo que consiste en TT, DT,
 20 CRM197, fragmento C de TT, y proteína D.

Cuando la proteína portadora es TT o un fragmento de la misma para Hib y los cuando menos dos sacáridos adicionales, la dosis total de portadora es de entre 2.5 y 25 microgramos , de entre
 25 3-20 microgramos, de entre 4 y 15 microgramos, de entre 5 y 12.5 microgramos, de entre 15 y 20 microgramos, de entre 16 y 19

microgramos o de entre 17 y 18 microgramos.

En una modalidad, la composición inmunogénica de la invención comprende cuando menos dos sacáridos bacterianos adicionales conjugados con una proteína portadora seleccionada a partir del grupo que consiste en TT, DT, CRM197, fragmento C de TT, y proteína D.

La composición inmunogénica de la invención opcionalmente comprende un conjugado de sacárido de Hib que tiene una proporción de Hib a la proteína portadora de entre 1:5 y 5:1; de entre 1:2 y 2:1; de entre 1:1 y 1:4; de entre 1:2 y 1:3.5; o de alrededor o exactamente 1:2.5 ó 1:3 (peso/peso).

La composición inmunogénica de la invención opcionalmente comprende cuando menos un conjugado de sacárido meningocócico (por ejemplo, MenA y/o MenC y/o MenW y/o MenY) que tiene una proporción de sacárido de Men a la proteína portadora de entre 1:5 y 5:1, de entre 1:2 y 5:1, de entre 1:0.5 y 1:2.5 o de entre 1:1.25 y 1:2.5 (peso/peso).

La proporción del sacárido a la proteína portadora (peso/peso) en un conjugado se puede determinar utilizando un conjugado esterilizado. La cantidad de proteína se determina empleando un ensayo de Lowry (por ejemplo, Lowry y colaboradores (1951) J. Biol. Chem. 193, 265-275, o Peterson y colaboradores, Analytical Biochemistry 100, 201-220 (1979)), y la cantidad de sacárido se determina utilizando ICP-OES (espectroscopía de emisión óptica de plasma inductivamente acoplada) para MenA, el ensayo DMAP para

MenC, y ensayo de Resorcinol para MenW y MenY (Monsigny y colaboradores (1988) Anal. Biochem. 175, 525-530).

En una modalidad de la composición inmunogénica de la invención, el sacárido de Hib se conjuga con la proteína portadora por medio de un enlazador, por ejemplo un enlazador bifuncional. El enlazador es opcionalmente heterobifuncional u homobifuncional, teniendo, por ejemplo, un grupo amino reactivo y un grupo de ácido carboxílico reactivo, 2 grupos amino reactivos o dos grupos de ácido carboxílico reactivos. El enlazador tiene, por ejemplo, entre 4 y 20, entre 4 y 12, entre 5 y 10 átomos de carbono. Un posible enlazador es ADH. Otros enlazadores incluyen B-propionamido (Publicación Internacional Número WO 00/10599), nitro-fenil-etil-amina (Gever y colaboradores (1979) Med. Microbiol. Immunol. 165; 171-288), haluros de halo-alquilo (Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US4057685), enlaces glicosídicos (Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números US4673574 y US4808700), y ácido 6-amino-caproico (Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US4459286).

Los conjugados de sacáridos presentes en las composiciones inmunogénicas de la invención se pueden preparar mediante cualquier técnica de acoplamiento conocida. Por ejemplo, el sacárido se puede acoplar mediante un enlace de tioéter. El método de conjugación se puede apoyar en la activación del sacárido con tetrafluoroborato de 1-ciano-4-dimetil-amino-piridinio (CDAP) para formar un éster de cianato. El sacárido activado se puede acoplar de

esta manera directamente o por medio de un grupo espaciador (enlazador), con un grupo amino sobre la proteína portadora. Opcionalmente, el éster de cianato se acopla con hexan-diamina o ADH, y el sacárido amino-derivado se conjuga con la proteína portadora utilizando química de heteroligamiento que involucra la formación del enlace de tioéter, o se conjuga con la proteína portadora utilizando la química de carbodi-imida (por ejemplo, EDAC o EDC). Estos conjugados se describen en la Solicitud del TCP publicada Número WO 93/15760 de Uniformed Services University, y en las Publicaciones Internacionales Números WO 95/08348 y WO 96/29094.

Otras técnicas adecuadas utilizan carbiinidas, hidrazidas, ésteres activos, norborano, ácido p-nitro-benzoico, N-hidroxi-succinimida, S-NHS, EDC, TSTU. Muchas se describen en la Publicación Internacional Número WO 98/42721. La conjugación puede involucrar un enlazador de carbonilo, el cual se puede formar mediante la reacción de un grupo hidroxilo libre del sacárido con CDI (Bethell y colaboradores, *J. Biol. Chem.* 1979, 254; 2572-4, Hearn y colaboradores, *J. Chromatogr.* 1981. 218; 509-18), seguida por la reacción con una proteína para formar un enlace de carbamato. Esto puede involucrar la reducción del término anomérico hasta un grupo hidroxilo primario, la protección/desprotección opcional del grupo hidroxilo primario, la reacción del grupo hidroxilo primario con CDI para formar un intermediario de carbamato de CDI, y el acoplamiento del intermediario de carbamato de CDI con un grupo amino sobre una

proteína.

Los conjugados también se pueden preparar mediante métodos de aminación reductiva directa, como se describen en las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números US 4365170 (Jennings) y US 4673574 (Anderson). Otros métodos se describen en las Patentes Europeas Números EP-0-161-188, EP-208375 y EP-0-477508.

Un método adicional involucra el acoplamiento de un bromuro de sacárido activado por bromuro de cianógeno (o CDAP) derivado con hidrazida de ácido adípico (ADH) con la proteína portadora mediante condensación de carbodi-imida (Chu C. y colaboradores, *Infect. Immunity*, 1983 245 256), por ejemplo utilizando EDAC.

En una modalidad, se enlaza un grupo hidroxilo de un sacárido con un grupo amino o carboxílico de una proteína, ya sea directa o indirectamente (a través de un enlazador). Cuando está presente un enlazador, opcionalmente se enlaza un grupo hidroxilo de un sacárido con un grupo amino de un enlazador, por ejemplo utilizando conjugación de CDAP. Se puede conjugar un grupo amino adicional del enlazador (por ejemplo, ADH) con un grupo de ácido carboxílico de una proteína, por ejemplo utilizando la química de carbodi-imida, por ejemplo, utilizando EDAC. En una modalidad, el Hib o cuando menos dos sacáridos adicionales se conjugan con el enlazador primero, antes de que se conjugue el enlazador con la proteína portadora.

En una modalidad, el sacárido de Hib se conjuga con la

proteína portadora utilizando CNBr, ó CDAP, o una combinación de CDAP y la química de carbodi-imida (tal como EDAC), o una combinación de CNBr y la química de carbodi-imida (tal como EDAC). Opcionalmente, se conjuga Hib con CNBr y la química de carbodi-imida (tal como EDAC). Por ejemplo, se utiliza CNBr para unir el sacárido y el enlazador, y luego se utiliza la química de carbodi-imida para unir el enlazador con la proteína portadora.

En una modalidad, cuando menos uno de los cuando menos dos sacáridos adicionales se conjuga directamente con una proteína portadora, opcionalmente se conjugan directamente los sacáridos Men W y/o MenY y/o MenC con una proteína portadora. Por ejemplo, MenW; MenY; MenC; MenW y MenY; MenW y MenC; MenY y MenC; o MenW, MenY y MenC, se enlazan directamente con la proteína portadora. Opcionalmente cuando menos uno de los cuando menos dos sacáridos adicionales se conjuga directamente mediante CDAP. Por ejemplo, MenW; MenY; MenC; MenW y MenY; MenW y MenC; MenY y MenC; o MenW, MenY y MenC, se enlazan directamente con la proteína portadora mediante CDAP (véanse las Publicaciones Internacionales Números WO 95/08348 y WO 96/29094).

En una modalidad, la proporción del sacárido Men W y/o Y a la proteína portadora es de entre 1:0.5 y 1:2 (peso/peso), o la proporción del sacárido MenC a la proteína portadora es de entre 1:0.5 y 1:2 ó 1:1.25 y 1:1.5 ó 1:0.5 y 1:1 (peso/peso), en especial en donde estos sacáridos se enlacen directamente con la proteína, opcionalmente utilizando CDAP.

En una modalidad, cuando menos uno de los cuando menos dos
 sacáridos adicionales se conjuga con la proteína portadora mediante
 un enlazador, por ejemplo un enlazador bifuncional. El enlace es
 opcionalmente heterobifuncional o homobifuncional, teniendo, por
 5 ejemplo, un grupo amino reactivo y un grupo de ácido carboxílico
 reactivo, dos grupos amino reactivos o dos grupos de ácido
 carboxílico reactivos. El enlazador tiene, por ejemplo, entre 4 y 20,
 entre 4 y 12, entre 5 y 10 átomos de carbono. Un posible enlazador
 es ADH.

10 En una modalidad, MenA; MenC; o MenA y MenC se conjuga
 con una proteína portadora por medio de un enlazador.

En una modalidad, el sacárido adicional se conjuga con una
 proteína portadora por medio de un enlazador utilizando CDAP y
 EDAC. Por ejemplo, MenA; MenC; o MenA y MenC se conjugan con
 15 una proteína por medio de un enlazador (por ejemplo, aquéllos con
 dos grupos amino en sus extremos, tales como ADH), utilizando
 CDAP y EDAC, como se describe anteriormente. Por ejemplo, se
 utiliza CDAP para conjugar el sacárido con un enlazador, y se utiliza
 EDAC para conjugar el enlazador con una proteína. Opcionalmente,
 20 la conjugación por medio de un enlazador da como resultado una
 proporción del sacárido a la proteína portadora de entre 1:0.5 y 1:6,
 de entre 1:1 y 1:5, ó de entre 1:2 y 1:4, para MenA; MenC; o MenA y
 MenC.

En una modalidad de la invención, la composición
 25 inmunogénica comprende polisacáridos capsulares de *N.*

meningitidis, a partir de cuando menos uno, dos, tres o cuatro de los serogrupos A, C, W, e Y, conjugados con una proteína portadora, en donde cuando menos uno, dos, tres, o cuatro, o cada polisacárido de *N. meningitidis*, es un polisacárido nativo, o bien se dimensiona
5 mediante un factor de hasta x2, x3, x4, x5, x6, x7, x8, x9, x10 ó x20. Por ejemplo, el tamaño promedio de cuando menos uno, dos, tres, o cuatro, o cada polisacárido de *N. meningitidis*, es mayor de 50 kDa, 60 kDa, 75 kDa, 100 kDa, 110 kDa, 120 kDa ó 130 kDa.

“Polisacárido nativo” se refiere a un polisacárido que no se ha
10 sometido a un proceso, cuyo propósito sea reducir el tamaño del polisacárido.

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

En un aspecto de la invención, la composición inmunogénica comprende polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* a partir de
20 cuando menos uno, dos, tres, o cuatro de los serogrupos A, C, W, e Y, conjugados con una proteína portadora, en donde cuando menos uno, dos, tres, o cuatro, o cada polisacárido de *N. meningitidis* se dimensiona por un factor de hasta x2, x3, x4, x5, x6, x7, x8, x9 ó x10.

25 En una modalidad, el tamaño promedio de cuando menos uno,

dos, tres, cuatro, o cada polisacárido de *N. meningitidis*, cuando esté presente, es de entre 50 kDa y 1,500 kDa, de entre 50 kDa y 500 kDa, de entre 50 kDa y 300 kDa, de entre 101 kDa y 1,500 kDa, de entre 101 kDa y 500 kDa, de entre 101 kDa y 300 kDa, como sea
5 determinado mediante MALLS.

En una modalidad, el sacárido MenA, cuando esté presente, tiene un peso molecular de 50-500 kDa, 50-100 kDa, 100-500 kDa, 55-90 KDa, 60-70k Da ó 70-80 kDa ó 60-80 kDa.

En una modalidad, el sacárido MenC, cuando esté presente,
10 tiene un peso molecular de 100-200 kDa, 50-100 kDa, 100-150 kDa, 101-130 kDa, 150-210 kDa ó 180-210 kDa.

En una modalidad, el sacárido MenY, cuando esté presente, tiene un peso molecular de 60-190 kDa, 70-180 kDa, 80-170 kDa, 90-160 kDa, 100-150 kDa ó 110-140 kDa, 50-100 kDa, 100-140 kDa,
15 140-170 kDa ó 150-160 kDa.

En una modalidad, el sacárido MenW, cuando esté 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 ó 120-140 kDa.

Los pesos moleculares del sacárido se refieren al peso
20 molecular del polisacárido medido antes de la conjugación, y se mide mediante MALLS.

En una modalidad, cualesquiera sacáridos de *N. meningitidis* presentes, son polisacáridos nativos, o polisacáridos nativos que se han reducido en su tamaño durante un proceso de extracción normal.

25 En una modalidad, cualesquiera sacáridos de *N. meningitidis*

presentes, se dimensionan mediante disociación mecánica, por ejemplo mediante microfluidización o sonicación. La microfluidización y la sonicación tienen la ventaja de disminuir el tamaño de los polisacáridos nativos más grandes suficientemente para proporcionar un conjugado filtrable.

En una modalidad, la polidispersidad del sacárido es de 1-1.5, 1-1.3, 1-1.2, 1-1.1 ó 1-1.05, y después de la conjugación con una proteína portadora, la polidispersidad del conjugado es de 1.0-2.5, 1.0-2.0, 1.0-1.5, 1.0-1.2, 1.5-2.5, 1.7-2.2 ó 1.5-2.0. Todas las mediciones de polidispersidad son mediante MALLS.

Para el análisis MALLS de los sacáridos meningocócicos, se pueden utilizar dos columnas (TSKG6000 y 5000PWxl TOSOH Bioscience) en combinación, y los sacáridos se eluyen en agua. Los sacáridos se detectan utilizando un detector de dispersión de luz (por ejemplo, Wyatt Dwan DSP equipado con un dispositivo de láser de argón de 10mW a 488 nanómetros), y un refractómetro interferométrico (por ejemplo, Wyatt Otilab DSP equipado con una celda P100 y un filtro rojo a 498 nanómetros).

En una modalidad, el sacárido MenA, cuando esté presente, es cuando menos parcialmente O-acetilado, de tal manera que cuando menos el 50 por ciento, el 60 por ciento, el 70 por ciento, el 80 por ciento, el 90 por ciento, el 95 por ciento, o el 98 por ciento de las unidades de repetición están O-acetiladas en cuando menos una posición. La O-acetilación, por ejemplo, está presente cuando menos en la posición O-3.

En una modalidad, el sacárido MenC, cuando esté presente, es cuando menos parcialmente O-acetilado, de tal manera que cuando menos el 30 por ciento, el 40 por ciento, el 50 por ciento, el 60 por ciento, el 70 por ciento, el 80 por ciento, el 90 por ciento, el 95 por ciento, o el 98 por ciento de unidades de repetición de NeuNAc
5 enlazado con ($\alpha 2 \rightarrow 9$) están O-acetiladas en cuando menos una o dos posiciones. La O-acetilación está presente, por ejemplo, en la posición O-7 y/u O-8.

En una modalidad, el sacárido MenW, cuando esté presente, es
10 cuando menos parcialmente O-acetilado, de tal manera que cuando menos el 30 por ciento, el 40 por ciento, el 50 por ciento, el 60 por ciento, el 70 por ciento, el 80 por ciento, el 90 por ciento, el 95 por ciento, o el 98 por ciento de las unidades de repetición están O-acetiladas en cuando menos una o dos posiciones. La O-acetilación
15 está presente, por ejemplo, en la posición O-7 y/o O-9.

En una modalidad, el sacárido MenY, cuando esté presente, es cuando menos parcialmente O-acetilado, de tal manera que cuando menos el 40 por ciento, el 50 por ciento, el 60 por ciento, el 70 por ciento, el 80 por ciento, el 90 por ciento, el 95 por ciento, o el 98 por
20 ciento de las unidades de repetición están O-acetiladas en cuando menos una o dos posiciones. La O-acetilación está presente en la posición 7 y/o 9.

El porcentaje de O-acetilación se refiere al porcentaje de las unidades de repetición que contienen O-acetilación. Éste se puede
25 medir en el sacárido antes de conjugarse y/o después de la

conjugación.

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

5 Opcionalmente, la composición inmunogénica o la vacuna contiene una cantidad de un adyuvante suficiente para mejorar la respuesta inmune al inmunógeno. Los adyuvantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, sales de aluminio (fosfato de aluminio o hidróxido de aluminio), mezclas de escualeno (SAF-1), péptido de
10 muramilo, derivados de saponina, preparaciones de paredes celulares de micobacterias, monofosforil-lípido A, derivados de ácido micólico, tensoactivos de copolímeros de bloque no iónicos, Quil A, subunidad B de toxina de cólera, polifosfazeno y sus derivados, y complejos inmunoestimulantes (ISCOMs), tales como los
15 descritos por Takahashi y colaboradores (1990) *Nature* 344:873-875.

Para las combinaciones de HibMen discutidas anteriormente, puede ser conveniente no utilizar ningún adyuvante de sal de aluminio, o ningún adyuvante en general.

En una modalidad, la composición inmunogénica comprende un
20 sacárido de Hib conjugado con toxoide de tétanos por medio de un enlazador, y un sacárido MenC conjugado con toxoide de tétanos, ya sea directamente o a través de un enlazador, y un sacárido MenY conjugado con toxoide de tétanos.

En una modalidad, la composición inmunogénica de la
25 invención se regula, o se ajusta, hasta un pH de 7.0 y 8.0, hasta un

pH de entre 7.2 y 7.6, o hasta un pH de alrededor o exactamente 7.4.

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

5 Como con todas las composiciones inmunogénicas o vacunas, las cantidades inmunológicamente efectivas de los inmunógenos se deben determinar empíricamente. Los factores que se deben considerar incluyen la inmunogenicidad, ya sea o no que el
10 inmunógeno vaya a formar complejo con, o se vaya a unir covalentemente a, un adyuvante o a una proteína portadora o a otro portador, las vías de administración, y el número de dosificaciones inmunizantes que se vayan a administrar. Estos factores son conocidos en la técnica de las vacunas, y están bien dentro de la experiencia de los inmunólogos hacer estas determinaciones sin una
15 indebida experimentación.

El agente activo puede estar presente en diferentes concentraciones en la composición farmacéutica o en la vacuna de la invención. Típicamente, la concentración mínima de la sustancia es una cantidad necesaria para lograr su uso pretendido, mientras que
20 la concentración máxima es la cantidad máxima que permanecerá en solución u homogéneamente suspendida dentro de la mezcla inicial. Por ejemplo, la cantidad mínima de un agente terapéutico, es una que proporcione una sola dosificación terapéuticamente efectiva. Para las sustancias bioactivas, la concentración mínima es una
25 cantidad necesaria para la bioactividad después de la reconstitución,

y la concentración máxima está en el punto en donde no se puede mantener una suspensión homogénea. En el caso de las unidades de una sola dosis, la cantidad es aquélla de una sola aplicación terapéutica. En términos generales, se espera que cada dosis
5 comprenderá de 1 a 100 microgramos de antígeno de proteína, por ejemplo de 5 a 50 microgramos, o de 5 a 25 microgramos. En una modalidad, las dosis de los sacáridos bacterianos individuales son de 10 a 20 microgramos, de 10 a 5 microgramos, de 5 a 2.5 microgramos, o de 2.5 a 1 microgramo. La cantidad preferida de la
10 sustancia varía de sustancia a sustancia, pero es fácilmente determinable por un experto en este campo.

Las preparaciones de vacuna de la presente invención se pueden utilizar para proteger o tratar a un mamífero (por ejemplo, a un paciente humano) susceptible a la infección, por medio de la
15 administración de la vacuna mediante la vía sistémica o mucosa. Estas administraciones pueden incluir inyección mediante las vías intramuscular, intraperitoneal, intradérmica, o subcutánea; o mediante administración mucosa a los tractos oral/alimentario, respiratorio, genitourinario. Se prefiere la administración intranasal
20 de las vacunas para el tratamiento de neumonía u otitis media (debido a que se puede prevenir más efectivamente la portación nasofaríngea de neumococos, atenuando de esta manera la infección en su etapa más temprana). Aunque la vacuna de la invención se puede administrar como una sola dosis, los componentes de la
25 misma también se pueden co-administrar juntos al mismo tiempo o



en diferentes tiempos (por ejemplo, si hay sacáridos presentes en una vacuna, éstos se podrían administrar por separado al mismo tiempo, o de una a dos semanas después de la administración de una vacuna de proteína bacteriana para coordinación óptima de las respuestas inmunes una con respecto a la otra). En adición a una sola vía de administración, se pueden emplear dos vías de administración diferentes. Por ejemplo, los antígenos virales se pueden administrar ID (intradérmicamente), mientras que las proteínas bacterianas se pueden administrar IM (intramuscularmente) o IN (intranasalmente). Si hay sacáridos presentes, se pueden administrar intramuscularmente (o intradérmicamente), y las proteínas bacterianas se pueden administrar intranasalmente (o intradérmicamente). En adición, las vacunas de la invención se pueden administrar intramuscularmente para las dosis de preparación, e intranasalmente para las dosis de refuerzo.

La preparación de la vacuna en general se describe en Vaccine Design ("The subunit and adjuvant approach" (editores: Powell M. F. & Newman M. J.) (1995) Plenum Press, Nueva York). La encapsulación dentro de liposomas es descrita por Fullerton, Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 4,235,877.

Un aspecto adicional de la invención es un kit de vacuna para su administración concomitante o en secuencia, el cual comprende dos composiciones inmunogénicas multivalentes para conferir protección en un hospedero contra la enfermedad causada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium*

diphtheriae, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*. Por ejemplo, el kit opcionalmente comprende un primer recipiente que comprende uno o más de:

- 5 toxoide de tétanos (TT),
- toxoide de difteria (DT), y
- componentes de tosferina de células enteras o acelulares,
- y un segundo recipiente que comprende cualquiera de:
- conjugado de sacárido de Hib, y
- cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos
- 10 adicionales,

 en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido más baja que la dosis de sacárido promedio de todos los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales;

o

- 15 un conjugado de sacárido de Hib, y
- cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos
- adicionales,

 en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido más baja que cada uno de los cuando menos dos

20 conjugados de sacáridos bacterianos adicionales (por ejemplo, en una dosis de sacárido más baja que cualquier sacárido presente en la composición).

 Los ejemplos del conjugado de Hib y los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales son como se

25 describen anteriormente.

Un aspecto adicional de la invención es un kit de vacuna para su administración concomitante o en secuencia, el cual comprende dos composiciones inmunogénicas multivalentes para conferir protección en un hospedero contra las enfermedades causadas por

5 *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*. Por ejemplo, el kit comprende opcionalmente un primer recipiente que comprende:

uno o más conjugados de una proteína portadora, y un sacárido capsular a partir de *Streptococcus pneumoniae* [en donde los

10 sacáridos capsulares son opcionalmente a partir de un serotipo neumocócico seleccionado a partir del grupo que consiste en 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],

y un segundo recipiente que comprende cualquiera de:

15 un conjugado de sacárido de Hib, y

cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales,

en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido más baja que la dosis de sacárido promedio de todos los

20 cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales;

o

un conjugado de sacárido de Hib, y

cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales,

25 en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de

sacárido más baja que cada uno de los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales (por ejemplo, en una dosis de sacárido más baja que cualquier sacárido presente en la composición).

- 5 Los ejemplos del conjugado de Hib y los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales son como se describen anteriormente.

 Típicamente, la vacuna de *Streptococcus pneumoniae* en el kit de vacuna de la presente invención comprenderá antígenos de
10 polisacáridos (opcionalmente conjugados), en donde los polisacáridos se derivan a partir de cuando menos cuatro serotipos de neumococo seleccionados a partir del grupo que consiste en 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. Opcionalmente, los cuatro serotipos
15 incluyen 6B, 14, 19F, y 23F. Más opcionalmente, se incluyen cuando menos siete serotipos en la composición, por ejemplo aquéllos derivados a partir de los serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, y 23F. Opcionalmente se incluyen más de siete serotipos en la composición, por ejemplo cuando menos 10, 11, 12, 13, ó 14 serotipos. Por
20 ejemplo, la composición en una modalidad incluye 11 polisacáridos capsulares derivados a partir de los serotipos 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F (opcionalmente conjugados). En una modalidad de la invención, se incluyen cuando menos 13 antígenos de polisacáridos (opcionalmente conjugados), aunque la invención
25 también contempla antígenos de 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).

Los sacáridos neumocócicos se conjugan con cualquier
 5 proteína portadora conocida, por ejemplo CRM197, toxoide de
 tétanos, toxoide de difteria, proteína D, o cualesquiera otras
 proteínas portadoras, como se menciona anteriormente.

Opcionalmente, los kits de vacunas de la invención comprenden
 un tercer componente. Por ejemplo, el kit comprende opcionalmente
 10 un primer recipiente que comprende uno o más de:

toxoide de tétanos (TT),
 toxoide de difteria (DT), y
 componentes de tosferina de células enteras o acelulares,
 y un segundo recipiente que comprende:

15 uno o más conjugados de una proteína portadora y un sacárido
 capsular a partir de *Streptococcus pneumoniae* [en donde el sacárido
 capsular es opcionalmente a partir de un serotipo neumocócico
 seleccionado a partir del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B,
 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F,
 20 23F y 33F],

y un tercer recipiente que comprende:

un conjugado de sacárido de Hib, y

cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos
 adicionales,

25 en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de

sacárido más baja que la dosis de sacárido promedio de todos los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales;
o

un conjugado de sacárido de Hib, y
5 cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales,

en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido más baja que cada uno de los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales (por ejemplo, en
10 una dosis de sacárido más baja que cualquier sacárido presente en la composición).

Las composiciones inmunogénicas que comprenden conjugados meningocócicos, por ejemplo Hib-MenC, HibMenAC, HibMenAW, HibMenAY, HibMenCW, HibMenCY, HibMenWY, MenAC, MenAW,
15 MenAY, MenCW, MenCY, MenWY ó MenACWY, incluyendo los kits de una composición similar a las descritas anteriormente, comprenden opcionalmente antígenos de sarampión y/o paperas y/o rubéola y/o varicela. Por ejemplo, la composición inmunogénica meningocócica contiene antígenos de sarampión, paperas, y rubéola,
20 o de sarampión, paperas, rubéola, y varicela. En una modalidad, estos antígenos virales están opcionalmente presentes en el mismo recipiente que los conjugados meningocócicos y/o de sacáridos de Hib. En una modalidad, estos antígenos virales están liofilizados.

Un aspecto adicional de la invención es un proceso para la
25 fabricación de la composición inmunogénica de la invención, el cual

comprende el paso de mezclar un conjugado de sacárido de Hib con cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales, para formar una composición en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido más baja que la dosis de sacárido promedio de los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.

La preparación de vacuna se describe en general en Vaccine Design ("The subunit and adjuvant approach" (editores: Powell M. F. & Newman M. J.) (1995) Plenum Press, Nueva York). La encapsulación dentro de liposomas es descrita por Fullerton, Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 4,235,877.

Un aspecto adicional de la invención es un método para inmunizar a un hospedero humano contra una enfermedad causada por *Haemophilus influenzae*, y opcionalmente una infección por *N. meningitidis*, el cual comprende administrar al hospedero una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica o vacuna o kit de la invención.

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

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 la prevención de las enfermedades causadas por *Haemophilus influenzae*, y

opcionalmente *N. meningitidis*.

Los inventores pretenden que los términos "comprendiendo", "comprenden", y "comprende", en la presente, sean opcionalmente sustituibles con los términos "consistiendo en", "consisten en", y "consiste en", respectivamente, en cada caso.

Todas las referencias o solicitudes de patente citadas en esta memoria descriptiva de patente se incorporan a la presente como referencia.

La invención se ilustra en los ejemplos acompañantes. Los siguientes Ejemplos se llevan a cabo empleando técnicas convencionales, las cuales son bien conocidas y de rutina para los expertos en la materia, excepto en donde se describa con detalle de otra manera. Los ejemplos son ilustrativos, pero no limitan la invención.

15 **Ejemplos**

Ejemplo 1 - Preparación de conjugados de polisacáridos

Se llevó a cabo el enlace covalente del polisacárido PRP de *Haemophilus influenzae* (Hib) con TT mediante la química de acoplamiento desarrollada por Chu y colaboradores (Infection and Immunity 1983, 40 81); 245-256). El polisacárido PRP de Hib se activó mediante la adición de CNBr, e incubando a un pH de 10.5 durante 6 minutos. El pH se redujo hasta un pH de 8.75, y se agregó dihidrazida de ácido adípico (ADH), y se continuó la incubación durante 90 minutos adicionales. El PRP activado se acopló con toxoide de tétanos purificado por medio de condensación de carbodi-

imida, utilizando 1-etil-3-(3-dimetil-amino-propil)-carbodi-imida (EDAC). La EDAC se agregó al PRP activado para alcanzar una proporción final de 0.6 miligramos de EDAC/miligramo de PRP activado. El pH se ajustó a 5.0, y se agregó el toxoide de tétanos purificado para alcanzar 2 miligramos de TT/miligramo de PRP activado. La solución resultante se dejó durante 3 días con agitación leve. Después de la filtración a través de una membrana de 0.45 micras, el conjugado se purificó en una columna Sephacryl S500HR (Pharmacia, Suecia) equilibrada en NaCl 0.2M.

Se produjeron conjugados de MenC-TT utilizando polisacáridos nativos (de más de 150 kDa, medidos mediante MALLS). Se produjeron conjugados de MenA-TT utilizando polisacáridos nativos, o bien el polisacárido ligeramente microfluidizado de más de 60 kDa, medidos mediante el método MALLS del Ejemplo 2. Se produjeron los conjugados MenW y MenY-TT utilizando polisacáridos dimensionados de alrededor de 100 a 200 kDa, medidos mediante MALLS (ver el Ejemplo 2). El dimensionamiento se hizo mediante microfluidización utilizando un aparato homogeneizador Emulsiflex C-50. Entonces los polisacáridos se filtraron a través de un filtro de 0.2 micras.

La activación y el acoplamiento se llevaron a cabo como se describe en las Publicaciones Internacionales Números WO96/29094 y WO 00/56360. Dicho de una manera breve, el polisacárido en una concentración de 10 a 20 miligramos/mililitro en NaCl 2M, pH de 5.5 a 6.0, se mezcló con la solución de CDAP (100 miligramos/mililitro

recién preparada en acetonitrilo/WFI, 50/50), hasta una proporción final de CDAP/polisacárido de 0.75/1 ó de 1.5/1. Después de 1.5 minutos, el pH se elevó con hidróxido de sodio hasta un pH de 10.0. Después de 3 minutos, se agregó el toxoide de tétanos para alcanzar una proporción de la proteína/polisacárido de 1.5/1 para MenW, de 1.2/1 para MenY, de 1.5/1 para MenA, o de 1.5/1 para MenC. La reacción se continuó durante 1 a 2 horas.

Después del paso de acoplamiento, se agregó lisina hasta una proporción final de glicina/PS (peso/peso) de 7.5/1, y el pH se ajustó a un pH de 9.0. La mezcla se dejó durante 30 minutos. El conjugado se aclaró utilizando un filtro Kleenpak de 10 micras, y luego se cargó en una columna Sephacryl S400HR, utilizando un regulador de elución de NaCl 150 mM, Tris 10 mM ó 5 mM, pH de 7.5. Los lotes clínicos se filtraron sobre una membrana esterilizante Opticap 4. Los conjugados resultantes tuvieron una proporción promedio del polisacárido:proteína de 1:1-1:5 (peso/peso).

Con el objeto de conjugar el polisacárido capsular MenA al toxoide de tétanos por medio de un espaciador, se empleó el siguiente método. El enlace covalente del polisacárido y el espaciador (ADH) se lleva a cabo mediante la química de acoplamiento, mediante la cual se activa el polisacárido bajo condiciones controladas mediante un agente cianilante, tetrafluoroborato de 1-ciano-4-dimetil-amino-piridinio (CDAP). El espaciador reacciona con el polisacárido cianilado a través de sus grupos hidrazino, para formar un enlace de isourea estable entre el

espaciador y el polisacárido.

Una solución de 10 miligramos/mililitro de MenA se trató con una solución recién preparada de 100 miligramos/mililitro de CDAP en acetonitrilo/agua (50/50) (volumen/volumen)), para obtener una
 5 proporción de CDAP/MenA de 0.75 (peso/peso). Después de 1.5 minutos, el pH se elevó a un pH de 10.0. Tres minutos después, se agregó ADH para obtener una proporción de ADH/MenA de 8.9. El pH de la solución se disminuyó hasta 8.75, y la reacción procedió durante 2 horas.

10 Antes de la reacción de conjugación, se diluyeron la solución de TT purificada y la solución de PSA_{AH} para alcanzar una concentración de 10 miligramos/mililitro para PSA_{AH}, y de 10 miligramos/mililitro para TT.

Se agregó EDAC a la solución de PSA_{AH} con el objeto de
 15 alcanzar una proporción final de 0.9 miligramos de EDAC/miligramo de PSA_{AH}. El pH se ajustó a 5.0. El toxoide de tétanos purificado se agregó con una bomba peristáltica (en 60 minutos) para alcanzar 2 miligramos de TT/miligramo de PSA_{AH}. La solución resultante se dejó durante 60 minutos a +25°C con agitación, para obtener un tiempo de
 20 acoplamiento final de 120 minutos. El conjugado se aclaró utilizando un filtro de 10 micras, y se purificó utilizando una columna Sephacryl S400HR.

Ejemplo 2 - Determinación del peso molecular utilizando MALLS

Los detectores se acoplaron a una columna de exclusión de
 25 tamaños de HPLC, de donde se eluyeron las muestras. Por una

parte, el detector de dispersión de luz de láser midió las intensidades de luz dispersadas en 16 ángulos por la solución macromolecular, y por otra parte, un refractómetro interferométrico colocado en línea permitió hacer la determinación de la cantidad de muestra eluida. A partir de estas intensidades, se pueden determinar el tamaño y la forma de las macromoléculas en solución.

El peso molecular promedio en peso (M_w) se define como la suma de los pesos de todas las especies, multiplicada por su peso molecular respectivo, y dividida entre la suma de los pesos de todas las especies.

a) Peso molecular promedio en peso: $-M_w-$

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

b) Peso molecular promedio en número: $-M_n-$

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

c) Radio de raíz cuadrada promedio: $-R_w-$ y R^2_w es el radio cuadrado definido por:

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

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

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

Los polisacáridos meningocócicos se analizaron mediante

MALLS cargándose sobre dos columnas de HPLC (TSKG6000 y 5000PWxl) utilizadas en combinación. Se cargaron 25 microlitros del polisacárido sobre la columna, y se eluyó con 0.75 mililitros de agua filtrada. Los polisacáridos se detectan utilizando un detector de
 5 dispersión de luz (Wyatt Dawn DSP equipado con un dispositivo de láser de argón de 10 mW a 488m nanómetros), y un refractómetro interferométrico (Waytt Otilab DSP, equipado con una celda P100, y un filtro rojo a 498 nanómetros).

El peso molecular, las polidispersidades, y las recuperaciones
 10 de todas las muestras, se calcularon mediante el método de Debye, utilizando un orden de ajuste polinómico de 1 en el software Astra 4.72.

Ejemplo 3 - Estudio clínico en fase II sobre la vacuna de conjugado de HibMenAC-TT mezclada con DTTw-HepB

15 Diseño del estudio: estudio de un solo centro, abierto, de selección aleatoria (1:1:1:1:1) con cinco grupos. Los cinco grupos recibieron el siguiente régimen de vacunación, respectivamente, a las 6, 10, y 14 semanas de edad.

- Tritanrix^{MR}-HepB/Hib-MenAC 2.5/2.5/2.5: y por
 20 consiguiente, referido como 2.5/2.5/2.5.
- Tritanrix^{MR}-HepB/Hib-MenAC 2.5/5/5: y por consiguiente, referido como 2.5/5/5.
- Tritanrix^{MR}-HepB/Hib-MenAC 5/5/5: y por consiguiente, referido como 5/5/5.
- 25 • Tritanrix^{MR}-HepB + Hiberix^{MR}: y por consiguiente, referido

como Hiberix.

- Tritanrix^{MR}-HepB/Hiberix^{MR} + Meningitec^{MR}: y por consiguiente, referido como Meningitec.

Se tomaron muestras de sangre en el momento de la primera dosis de vacuna (Pre), y un mes después de la tercera dosis de vacuna (posterior a la dosis 3).

Tritanrix es una vacuna de DTPw comerciada por GlaxoSmithKline Biologicals S.A.

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

Tabla 1

	Componentes por dosis (0.5 mililitros)	2.5/2.5/2.5*	2.5/5/5	5/5/5
15	Polisacárido capsular PRP de Hib conjugado con toxoide de tétanos (TT).	2.5 µg	2.5 µg	5 µg
20	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 fue una dilución de la dosis de la vacuna Hib-

MenAC 5/5/5 de GSK Biologicals conteniendo 2.5 microgramos de cada uno de PRP-TT, MenA-TT, y MenC-TT.

Las formulaciones de vacuna de Hib-MenAC se mezclaron extemporáneamente con Tritanrix-HepB. La vacuna combinada de *Bordetella Pertussis* de células enteras de difteria-tétanos - hepatitis B (DTPw-HB) (Tritanrix-HepB) contiene no menos de 30 Unidades Internacionales (IU) de toxoide de difteria, no menos de 60 Unidades Internacionales de toxoide de tétanos, no menos de 4 Unidades Internacionales *Bordetella pertussis* muertas, y 10 microgramos de antígeno superficial de hepatitis B recombinante.

Terapia de referencia, dosis, modo de administración, número de lote:

Programa/sitio de vacunación: Un grupo recibió la vacuna Tritanrix-HepB intramuscularmente en el muslo izquierdo, y Hiberix intramuscularmente en el muslo derecho a las 6, 10, y 14 semanas de edad. Otro grupo recibió la vacuna Tritanrix^{MR}-HepB/Hiberix^{MR} intramuscularmente en el muslo izquierdo, y la vacuna Meningitec^{MR} intramuscularmente en el muslo derecho a las 6, 10, y 14 semanas de edad.

Vacuna/composición/dosis/número de lote: La vacuna Tritanrix^{MR}-HepB utilizada fue como se describe anteriormente.

Una dosis (0.5 mililitros) de vacuna conjugada de *Haemophilus influenzae* tipo b de GSK Biologicals: Hiberix^{MR} contuvo 10 microgramos de PRP conjugado con toxoide de tétanos. En el grupo de Hiberix^{MR}, se mezcló con diluyente estéril, y en el grupo de

Meningitec^{MR} se mezcló con Tritanrix^{MR}-HepB.

Una dosis (0.5 mililitros) de vacuna MENINGITEC^{MR} de Wyeth Lederle contuvo: 10 microgramos de polisacárido capsular del grupo meningocócico C conjugado con 15 microgramos de proteína CRM197 de *Corynebacterium diphtheria*, y aluminio como sales.

Resultados - Respuestas inmunes generadas contra Hib, MenA, y MenC

Tabla 2a. Anti-PRP (microgramos/mililitro)

Grupo	2.5/2.5/2.5	2.5/5/5	5/5/5	Hiberix ^{MR}	Meningitec ^{MR}
	% 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

Tabla 2b. SBA-MenC

Grupo	2.5/2.5/2.5	2.5/5/5	5/5/5	Hiberix ^{MR}	Meningitec ^{MR}
	% 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 2c. SBA-MenA

Grupo	2.5/2.5/2.5	2.5/5/5	5/5/5	Hiberix ^{MR}	Meningitec ^{MR}
	% 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	99.7 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 2d. Anti-PSC (microgramos/mililitro)

Grupo	2.5/2.5/2.5	2.5/5/5	5/5/5	Hiberix ^{MR}	Meningitec ^{MR}
	% 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
%≥0.3	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 2e. Anti-PSA (microgramos/mililitro)

Grupo	2.5/2.5/2.5	2.5/5/5	5/5/5	Hiberix ^{MR}	Meningitec ^{MR}
	% 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
%≥0.3	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

La vacuna conjugada de Hib-MenAC con la formulación 2.5/5/5, dio consistentemente respuestas inmunes tituladas más altas contra

PRP, MenA, y MenC, que las formulaciones de vacuna conjugada con cantidades iguales de sacáridos de Hib, MenA, y MenC. Este efecto también se vio en los ensayos bacteriocidas de suero (SBA), en donde se alcanzaron las mejores respuestas contra MenA y MenC, 5 utilizando la formulación 2.5/5/5 de la vacuna conjugada de Hib-MenAC.

Ejemplo 4 - Estudio clínico de HibMenAC - preparación con conjugados de HibMenAC

Se llevó a cabo un estudio abierto en fase II, de selección aleatoria, para evaluar la memoria inmune inducida por el curso de 10 vacunación primaria de la vacuna Tritanrix^{MR}-HepB/HibMenAC, y para evaluar la inmunogenicidad y la reactogenicidad de una dosis de refuerzo de la vacuna Tritanrix^{MR}-HepB de GSK Biologicals mezclada ya sea con la vacuna conjugada de Hib-MenAC de GSK 15 Biologicals, o bien con la vacuna de Hib_{2.5} de GSK Biologicals, a los 15 a 18 meses de edad, en sujetos vacunados con Tritanrix^{MR}-HepB/Hib-MenAC. Cinco grupos recibieron los regímenes de vacunación primaria a las 6, 10, y 14 semanas de edad, como se presenta en la Tabla 3.

20

25

Tabla 3

	Vacunación Primaria	Grupo	A los 10 meses de edad	A los 15 a 18 meses de edad
	Grupos de Tratamiento			
5	Tritanrix ^{MR} -HepB/Hib-MenAC 2.5/2.5/2.5	1	1/5 de dosis de Mencevax ^{MR} AC (10 µg MenA y 10 µg MenC) y 10 µg de Plain PRP	Tritanrix ^{MR} -HepB/Hib _{2.5}
		2	-	Tritanrix ^{MR} -HepB/Hib _{2.5}
10	Tritanrix ^{MR} -HepB/Hib-MenAC 5/5/5	3	1/5 de dosis de Mencevax ^{MR} AC (10 µg MenA y 10 µg MenC) y 10 µg de Plain PRP	Tritanrix ^{MR} -HepB/Hib _{2.5}
		4	-	Tritanrix ^{MR} -HepB/Hib _{2.5}
15	Tritanrix ^{MR} -HepB/Hib-MenAC 2.5/5/5	5	1/5 de dosis de Mencevax ^{MR} AC (10 µg MenA y 10 µg MenC) y 10 µg de Plain PRP	Tritanrix ^{MR} -HepB/Hib _{2.5}
		6	-	Tritanrix ^{MR} -HepB/Hib _{2.5}
20	Grupos de Control			
	Tritanrix ^{MR} -HepB + Hiberix ^{MR}	7	1/5 de dosis de Mencevax ^{MR} AC (10 µg MenA y 10 µg MenC) y 10 µg de Plain PRP	Tritanrix ^{MR} -HepB/Hib-MenAC

	Vacunación Primaria	Gru- po	A los 10 meses de edad	A los 15 a 18 meses de edad
5		8	-	Tritanrix ^{MR} - HepB/Hib- MenAC
	Tritanrix ^{MR} -HepB / Hiberix ^{MR} + Meningitec ^{MR}	9	1/5 de dosis de Mencevax ^{MR} AC (10 µg MenA y 10 µg MenC) y 10 µg de Plain PRP	Tritanrix ^{MR} - HepB/Hib- MenAC
10		10	-	Tritanrix ^{MR} - HepB/Hib- MenAC

Se tomaron muestras de sangre de los Grupos 1, 3, 5, 7, y 9 en el momento del refuerzo con el polisacárido llano (PS) (es decir, Pre-PS - mes 10), y un mes después del refuerzo con el polisacárido llano (es decir, post-PS - mes 11).

Nota: Se han presentado los resultados de inmunogenicidad obtenidos en los cinco grupos que recibieron el refuerzo con polisacárido llano (es decir, los Grupos 1, 3, 5, 7, y 9).

Número de sujeto: Planeado: 450 (45 sujetos por grupo).

Inscritos: en los 1, 3, 5, 7, y 9 que recibieron el refuerzo con polisacárido llano, se inscribieron un total de 193 sujetos (42 en el grupo 1, 39 en el grupo 3, 37 en el grupo 5, 36 en el grupo 7, y 39 en el grupo 9). *Terminaron:* No aplicable.

Inmunogenicidad: Cohorte inscrita total = 193 sujetos.

Nota: En este estudio, la cohorte inscrita total = cohorte vacunada

total.

Diagnóstico y criterios para inclusión: Un sujeto macho o hembra de 10 meses de edad que hubiera terminado el curso de vacunación primaria de tres dosis descrito en el Ejemplo 1, libre de problemas de salud obvios, que no hubiera recibido vacunación de refuerzo previa contra difteria, tétanos, tosferina, hepatitis B, los serogrupos meningocócicos A ó C, y/o enfermedad de Hib desde la cita de la conclusión del estudio primario. Se obtuvo un consentimiento informado por escrito del progenitor/tutor del sujeto antes de entrar al estudio.

Vacunas del estudio, dosis, modo de administración, número de lote: Todas las vacunas utilizadas en este estudio fueron desarrolladas y fabricadas por GSK Biologicals.

Programa/sitio de vacunación: Los sujetos de los Grupos 1, 3, 5, 7, y 9 recibieron la vacuna combinada de polisacárido A y polisacárido C, 1/5 de la dosis de Mencevax^{MR} AC, y 10 microgramos del PRP llano como una inyección intramuscular en el muslo anterolateral izquierdo y derecho a los 10 meses de edad, respectivamente.

Duración del tratamiento: La duración de todo el estudio fue de aproximadamente 6 a 9 meses por sujeto, que incluyó la vacunación de refuerzo administrada a los 15 a 18 meses de edad. Se hizo un análisis interino en el mes 11 (es decir, un mes después de la administración del refuerzo de polisacárido llano en el mes 10).

Criterios para la evaluación: Antes de, y un mes después de, la administración del refuerzo con polisacárido llano, los criterios para la evaluación de los Grupos 1, 3, 5, 7, y 9 fueron como sigue:

- titulación de anticuerpo SBA-MenA $\geq$ 1:8.
- 5 - titulación de anticuerpo SBA-MenC $\geq$ 1:8.
- concentración de anticuerpo anti-PSA $\geq$ 0.3 microgramos/mililitro.
- concentración de anticuerpo anti-PSC $\geq$ 0.3 microgramos/mililitro.
- 10 - concentración de anticuerpo anti-PRP $\geq$ 0.15 microgramos/mililitro.

Métodos estadísticos: El análisis interino se basó en la cohorte inscrita total. Todos los análisis fueron puramente descriptivos, y no se calculó ninguna inferencia estadística sobre cualesquiera puntos
15 finales. Los análisis se llevaron a cabo solamente para los cinco grupos (es decir, Grupos 1, 3, 5, 7, y 9) que recibieron el refuerzo con polisacárido llano a los 10 meses de edad. Aunque estos cinco grupos fueron subgrupos de los grupos principales en el estudio primario, los resultados se presentan igual que para la asignación
20 del grupo de estudio primario.

Análisis de inmunogenicidad: En este ejemplo se han presentado los resultados obtenidos en los tres puntos del tiempo, es decir - un mes después de la tercera dosis de vacuna en el estudio de vacunación primaria (Ejemplo 1), antes de la administración del
25 refuerzo con polisacárido (es decir, a los 10 meses de edad), para la

evaluación de la persistencia de la respuesta inmune después de la vacunación primaria, y un mes después de la administración del refuerzo con polisacárido (es decir, a los 11 meses de edad), para la evaluación de la memoria inmune inducida por la vacunación primaria. En cada punto del tiempo: se tabularon las concentraciones o titulaciones medias geométricas de anticuerpo (GMCs o GMTs) con intervalos de confianza (CIs) del 95 por ciento para el estudio bactericida de suero (SBA)-MenC, SBA-MenA, anti-PSC, anti-PSA, y anti-PRP. Se calcularon los índices de seropositividad o seroprotección con intervalos de confianza del 95 por ciento exactos para cada anticuerpo. Se investigaron las concentraciones o titulaciones de anticuerpos antes del refuerzo con polisacárido, y un mes después del refuerzo con polisacárido, utilizando las curvas acumulativas inversas (RCCs) para cada antígeno y serotipo.

15 Resultados

Resultados demográficos: La edad promedio de la cohorte inscrita total fue de 43.2 semanas con una desviación estándar de 6.5 semanas. La proporción de machos a hembras fue de 1.3 (110/83). Todos los sujetos pertenecían a la raza asiática oriental o asiática sur-oriental.

Resultados de inmunogenicidad: Los resultados de inmunogenicidad para la cohorte inscrita total se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4a

	Anticuerpo	Grupo	Tiempo	95% CI (LL, UL)			GMC/ GMT	95% CI (LL, UL)	
5	Anti-PRP	2.5/2.5/2.5	PIII(M3)	100.0	91.6	100.0	17.872	11.358	28.123
	(% ≥ 0.15 µg/ml)		PRE-PS	97.5	86.8	99.9	6.940	4.402	10.941
			POST-PS	100.0	91.6	100.0	66.510	38.690	114.334
		5/5/5	PIII(M3)	100.0	91.0	100.0	17.306	11.477	26.095
			PRE-PS	94.9	82.7	99.4	4.520	2.946	6.937
			POST-PS	100.0	91.0	100.0	44.418	26.595	74.186
10		2.5/5/5	PIII(M3)	100.0	90.5	100.0	22.484	15.217	33.223
			PRE-PS	100.0	89.7	100.0	5.092	3.290	7.883
			POST-PS	100.0	90.5	100.0	54.244	32.251	91.234
		Hiberix ^{MR}	PIII(M3)	100.0	90.3	100.0	30.106	18.316	49.485
			PRE-PS	100.0	90.3	100.0	5.105	3.238	8.049
			POST-PS	100.0	90.3	100.0	37.049	21.335	64.336
15		Meningitec ^{MR}	PIII(M3)	100.0	91.0	100.0	12.257	8.234	18.246
			PRE-PS	100.0	91.0	100.0	4.227	2.804	6.372
			POST-PS	100.0	91.0	100.0	24.354	15.308	38.747
	SBA-MenA (% ≥ 1:8)	2.5/2.5/2.5	PIII(M3)	97.1	84.7	99.9	342.3	230.7	507.9
			PRE-PS	91.7	77.5	98.2	161.9	93.9	279.1
			POST-PS	100.0	88.4	100.0	737.2	577.3	941.4
20		5/5/5	PIII(M3)	100.0	90.0	100.0	394.6	297.8	523.0
			PRE-PS	94.3	80.8	99.3	193.2	126.7	294.7
			POST-PS	96.7	82.8	99.9	720.8	479.8	1082.7
		2.5/5/5	PIII(M3)	100.0	90.0	100.0	385.8	285.9	520.5
			PRE-PS	88.2	72.5	96.7	162.7	95.8	276.2
			POST-PS	100.0	88.4	100.0	929.9	718.4	1203.6
25		Hiberix ^{MR}	PIII(M3)	10.0	2.1	26.5	6.6	3.7	11.7
			PRE-PS	72.7	54.5	86.7	96.9	46.0	204.1
			POST-PS	100.0	89.4	100.0	631.8	475.5	839.4
		Meningitec ^{MR}	PIII(M3)	6.9	0.8	22.8	4.8	3.6	6.4
			PRE-PS	80.0	63.1	91.6	119.7	62.7	228.3
			POST-PS	92.1	78.6	98.3	449.9	271.7	745.0

5

10

Anticuerpo	Grupo	Tiempo		95% CI (LL, UL)		GMC/ GMT	95% CI (LL, UL)	
SBA-MenC (% ≥ 1:8)	2.5/2.5/2.5	PIII(M3)	100.0	91.6	100.0	3342.3	2466.9	4528.3
		PRE-PS	90.5	77.4	97.3	322.3	190.2	546.1
		POST-PS	100.0	91.6	100.0	2713.5	1909.4	3856.2
	5/5/5	PIII(M3)	100.0	91.0	100.0	3863.1	3025.9	4932.1
		PRE-PS	97.3	85.8	99.9	463.9	292.9	734.7
		POST-PS	100.0	91.0	100.0	2377.3	1665.4	3393.4
	2.5/5/5	PIII(M3)	100.0	90.5	100.0	5339.0	3829.4	7443.6
		PRE-PS	94.6	81.8	99.3	451.4	281.7	723.5
		POST-PS	100.0	90.3	100.0	2824.7	2048.1	3895.8
	Hiberix ^{MR}	PIII(M3)	2.8	0.1	14.5	4.5	3.6	5.7
		PRE-PS	5.7	0.7	19.2	4.8	3.6	6.4
		POST-PS	17.6	6.8	34.5	9.8	4.8	19.7
	Meningitec ^{MR}	PIII(M3)	100.0	91.0	100.0	4557.8	3539.3	5869.5
		PRE-PS	97.4	86.5	99.9	347.7	221.6	545.4
		POST-PS	100.0	91.0	100.0	1557.7	1090.8	2224.4

15

95% CL: Intervalo de confianza del 95 por ciento; LL: Límite inferior; UL: Límite superior; GMC/GMT: concentración media geométrica/titulación media geométrica.

20

PIII(M 3):Muestra de sangre después de la vacunación obtenida un mes después de la tercera dosis de la vacunación primaria de tres dosis.

PRE-PS: Muestra de sangre obtenida antes del refuerzo con polisacárido llano en el mes 10.

POST-PS: Muestra de sangre obtenida un mes después del refuerzo con polisacárido llano.

25

Tabla 4b

	Anticuerpo	Grupo	Tiempo		95% CI (LL, UL)		GMC/ GMT	95% CI (LL, UL)	
5	Anti-PSA	2.5/2.5/2.5	PIII(M3)	100.0	91.2	100.0	17.64	13.52	23.02
	(% ≥ 0.3 µg/ml)		PRE-PS	92.5	79.6	98.4	1.79	1.22	2.62
			POST-PS	100.0	91.6	100.0	23.58	16.76	33.17
		5/5/5	PIII(M3)	100.0	91.0	100.0	26.06	20.30	33.45
			PRE-PS	97.4	86.5	99.9	2.25	1.60	3.18
			POST-PS	100.0	91.0	100.0	24.13	17.64	33.01
		2.5/5/5	PIII(M3)	100.0	90.3	100.0	24.03	18.84	30.65
10			PRE-PS	91.2	76.3	98.1	1.47	0.99	2.19
			POST-PS	100.0	90.5	100.0	22.68	15.81	32.54
		Hiberix ^{MR}	PIII(M3)	0.0	0.0	10.3	0.15	0.15	0.15
			PRE-PS	5.6	0.7	18.7	0.16	0.15	0.17
			POST-PS	75.8	57.7	88.9	1.03	0.55	1.93
		Meningitec ^{MR}	PIII(M3)	2.6	0.1	13.8	0.16	0.14	0.17
			PRE-PS	7.7	1.6	20.9	0.16	0.15	0.18
15			POST-PS	66.7	49.8	80.9	0.84	0.49	1.42
	Anti-PSC	2.5/2.5/2.5	PIII(M3)	100.0	91.6	100.0	48.45	39.65	59.20
	(% ≥ 0.3 µg/ml)		PRE-PS	100.0	91.2	100.0	7.11	5.69	8.89
			POST-PS	100.0	91.2	100.0	21.55	17.24	26.94
		5/5/5	PIII(M3)	100.0	91.0	100.0	56.42	48.16	66.11
			PRE-PS	100.0	91.0	100.0	8.32	6.74	10.28
			POST-PS	100.0	90.0	100.0	22.32	18.21	27.36
20		2.5/5/5	PIII(M3)	100.0	90.3	100.0	76.98	62.69	94.53
			PRE-PS	100.0	89.7	100.0	8.64	6.93	10.77
			POST-PS	100.0	90.5	100.0	24.75	19.37	31.61
		Hiberix ^{MR}	PIII(M3)	6.1	0.7	20.2	0.16	0.15	0.18
			PRE-PS	0.0	0.0	9.7	0.15	0.15	0.15
			POST-PS	100.0	90.3	100.0	8.05	5.73	11.30
		Meningitec ^{MR}	PIII(M3)	100.0	91.0	100.0	59.05	48.16	72.41
25			PRE-PS	100.0	91.0	100.0	7.33	5.51	9.75
			POST-PS	100.0	90.7	100.0	17.13	13.38	21.94

95% CL: Intervalo de confianza del 95 por ciento; LL: Límite inferior; UL: Límite superior; GMC/GMT: concentración media geométrica/titulación media geométrica.

PIII(M 3): Muestra de sangre después de la vacunación obtenida un mes después de la tercera dosis de la vacunación primaria de tres dosis.

PRE-PS: Muestra de sangre obtenida antes del refuerzo con polisacárido llano en el mes 10.

POST-PS: Muestra de sangre obtenida un mes después del refuerzo con polisacárido llano.

Conclusión

La formulación de la vacuna conjugada de Hib MenAC 2.5/5/5 que contenía una cantidad más baja de Hib, tendió a dar una mejor respuesta de memoria inmune a MenA y MenC en los ensayos SBA que las formulaciones de vacuna que contenían cantidades iguales de los tres conjugados. Esto se puede ver a partir de una comparación de las lecturas de POST-PS. Por consiguiente, el uso de la formulación 2.5/5/5 en la preparación da como resultado una respuesta de memoria inmune superior.

Viendo los datos de PIII(M3), se vieron lecturas más altas para la formulación 2.5/5/5 para Hib (22.5 contra 17) y MenC (76 contra 48 ó 56 y 5339 contra 3342 ó 3863 mediante SBA).

Ejemplo 5a: Estudio clínico utilizando HibMenCY dado de una manera concomitante con Infanrix penta y Prevenar en bebés a los 2, 4, y 6 meses

Diseño del estudio: Estudio de múltiples centros, en fase II, abierto (parcialmente doble-ciego*), de selección aleatoria (1:1:1:1:1), controlado, con cinco grupos paralelos que recibieron vacunas concomitantes como sigue, como un curso de vacunación primaria de tres dosis, a los 2, 4, y 6 meses de edad:

- Grupo Hib-MenCY 2.5/5/5: Hib-MenCY (2.5/5/5) + Infanrix® penta + Prevenar®.
- Grupo Hib-MenCY 5/10/10 : Hib-MenCY (5/10/10) + Infanrix® penta + Prevenar®.
- 10 - Grupo Hib-MenCY 5/5/5 : Hib-MenCY (5/5/5) + Infanrix® penta + Prevenar®.
- Grupo Menjugate : Menjugate® + Act HIB® + Infanrix® penta**.
- Grupo ActHIB : ActHIB® + Infanrix® penta + Prevenar®

15 *Hib-MenCY (2.5/5/5) y Hib-MenCY (5/10/10) se administraron de una manera doble-ciega. La formulación de Hib-MenCY (5/5/5) no se pudo administrar en un doble-ciego, debido a que se preparó reconstituyendo una formulación de Hib-MenCY (10/10/10) con 1.0 mililitro de diluyente (la mitad de la solución se desechó, y se

20 administraron los 0.5 mililitros restantes), mientras que las formulaciones de HibMenCY (2.5/5/5) y HibMenCY (5/10/10) se administraron después de la reconstitución con 0.5 mililitros de diluyente.

25 **A los sujetos de este grupo se les ofrecerán dos dosis de una vacuna conjugada neumocócica con licencia al final del

estudio del refuerzo 792014/002 de acuerdo con la información de la prescripción.

Se obtuvieron muestras de sangre (4.0 mililitros) de todos los sujetos antes de, y un mes después de, la terminación del curso de vacunación primaria (mes del estudio 0 y mes del estudio 5).

El estudio se plató para ser sobre 400 sujetos, con 80 sujetos en cada uno de los cinco grupos. El estudio se completó con un total de 398 sujetos (Grupo Hib-MenCY 2.5/5/5:80; Grupo Hib-MenCY 5/10/10:81; Grupo Hib-MenCY 5/5/5:78; Grupo Menjugate: 81; Grupo ActHIB:78).

Programa/sitio de vacunación: Tres dosis inyectadas intramuscularmente a intervalos de dos meses, a aproximadamente los 2, 4, y 6 meses de edad, como sigue:

Tabla 5. Vacunas administradas y sitio

Grupo	Vacunas administradas, muslo izquierdo	Vacunas administradas, muslo derecho
Hib-MenCY 2.5/5/5	Hib-TT (2.5µg)-MenC-TT (5µg)-MenY-TT (5µg)	DTPa-HBV-IPV (Infanrix® penta): superior Neumocócica (Prevenar®): inferior
Hib-MenCY 5/10/10	Hib-TT (5µg)-MenC-TT (10µg)-MenY-TT (10µg)	DTPa-HBV-IPV (Infanrix® penta): superior Neumocócica (Prevenar®):

5

10

15

Grupo	Vacunas administradas, muslo izquierdo	Vacunas administradas, muslo derecho
		inferior
Hib-MenCY 5/5/5	Hib-TT (5µg)-MenC-TT (5µg)- MenY-TT (5µg)	DTPa-HBV-IPV (Infanrix® penta): superior Neumocócica (Prevenar®): inferior
Menjugate®	ActHIB®	DTPa-HBV-IPV (Infanrix® penta): superior MenC (Menjugate®): inferior
ActHIB®	ActHIB®	DTPa-HBV-IPV (Infanrix® penta): superior Neumocócica (Prevenar®): inferior

Tabla 6. Formulación de vacuna candidata y números de lote

20

25

Vacuna	Formulación: contenido/dosis	Presentación	No. de lote (no. de lote de diluyente)
Hib-MenCY 2.5/5/5	Polisacárido capsulas de poli-ribosil-ribitol (PRP) de <i>H. influenzae</i> tipo b 2.5 µg conjugados con toxoide de	Gránulo liofilizado en un frasco de una sola dosis (0.5 ml	DCYH003A48 (01B20/22A)

5

10

15

20

25

Vacuna	Formulación: contenido/dosis	Presentación	No. de lote (no. de lote de diluyente)
	tétanos (TT); Polisacárido capsular de <i>N. meningitidis</i> serogrupo C (PSC), 5 µg conjugados con TT; Polisacárido capsular de <i>N. meningitidis</i> serogrupo Y (PSY), 5 µg conjugados con TT	después de la reconstitución con diluyente de suero)	
Hib-MenCY 5/10/10	PRP, 5 µg conjugado con TT; PSC 10 µg conjugado con TT; PSY 10 µg conjugado con TT.	Gránulo liofilizado en un frasco de una sola dosis (0.5 ml después de la reconstitución con diluyente de suero)	DCYH002A48 (01B20/22A)
Hib-MenCY 5/5/5	PRP 5 µg conjugado con TT; PSC 5 µg conjugado con TT;	Gránulo liofilizado en un frasco de una sola dosis.	DCYH001A48 (01B20/22A)

37

5

Vacuna	Formulación: contenido/dosis	Presentación	No. de lote (no. de lote de diluyente)
	PSY 5 µg conjugado con TT		

10

*La Hib-MenCY 5/5/5 se preparó disolviendo la formulación de Hib-MenCY 10/10/10 con 1.0 mililitro de diluyente; se administraron 0.5 mililitros, y se desecharon los 0.5 mililitros restantes.

15

Criterios para la evaluación:

20

Inmunogenicidad: Medición de titulaciones/concentraciones de anticuerpos contra cada antígeno de vacuna antes de la primera dosis (mes 0), y aproximadamente un mes después de la tercera dosis (mes 5) en todos los sujetos. Determinación de titulaciones de anticuerpos bactericidas contra *N. meningitidis* serogrupos C e Y (SBA-MenC y SBA-MenY) mediante una prueba bactericida (cortes del ensayo: una dilución de 1:8 y de 1:128), y medición ELISA de los anticuerpos contra *N. meningitidis* serogrupos C e Y (anti-PSC y anti-PSY, cortes de ensayo ≥ 0.3 microgramos/mililitro y ≥ 2 microgramos/mililitro), el polisacárido PRP de Hib (anti-PRP, cortes de ensayo ≥ 0.15 microgramos/mililitro y ≥ 1.0 microgramos/mililitro), los tres antígenos de tosferina (anti-HBs, anti-FHA, anti-PRN, corte de ensayo ≥ 5 EL.U/mililitro), anticuerpos para el antígeno superficial de hepatitis B (anti-HBs, corte de ensayo ≥ 10 miliunidades

25

internacionales/mililitro), toxoides de difteria y tétanos (anti-difteria y anti-tétanos, corte de ensayo 0.1 Unidades Internacionales/mililitro); anti-virus de polio tipos 1, 2, y 3 (corte de ensayo de 1:8); siete serotipos neumocócicos anti-4, anti-6B, anti-9V, anti-14, anti-18C, anti-19F, anti-23F (corte ensayo de 0.05 microgramos/mililitro).

La respuesta de la vacuna primaria a los antígenos de tosferina se definió como seropositividad (anticuerpos detectables) después de la tercera dosis en los sujetos con anticuerpos previamente indetectables, o cuando menos el mantenimiento de la concentración de anticuerpo antes de la vacunación en los sujetos que fueron inicialmente seropositivos.

Seguridad (criterios para la evaluación): seguimiento de 8 días (días 0 a 7), después de la administración de cada dosis de vacuna, de los síntomas locales solicitados (dolor, enrojecimiento, hinchamiento) y generales (mareos, fiebre, irritabilidad, y pérdida de apetito) reportados en tarjetas de diario por los progenitores/tutores de los sujetos; seguimiento de 31 días (días 0 a 30), después de cada dosis de vacuna, de los eventos adversos no severos no solicitados; y de los eventos adversos severos (SAEs) durante todo el período de estudio.

Métodos estadísticos:

Inmunogenicidad

- Se tabularon las concentraciones o titulaciones medias geométricas de anticuerpos (GMC/Ts) con intervalos de confianza (Cis) del 95 por ciento para cada antígeno. El cálculo de GMC-Ts se

llevó a cabo tomando el anti-logaritmo en la base 10 (anti-log10) de la media de las transformaciones de concentración o titulación log10. Las concentraciones o titulaciones de anticuerpos debajo del corte del ensayo recibieron un valor arbitrario de la mitad del corte para el
5 propósito del cálculo de GMC/T. Se calcularon los porcentajes de sujetos con una concentración/titulación de anticuerpos arriba de los cortes de ensayo especificados, o con una respuesta de vacuna con un intervalo de confianza exacto del 95 por ciento. Se investigaron las concentraciones/titulaciones de anticuerpos utilizando las curvas
10 de anticuerpos acumulativas inversas para cada antígeno después de la vacunación. Se tabuló la distribución de la concentración de anticuerpos para los siete antígenos neumocócicos.

- Se evaluaron las diferencias entre los grupos de Hib-MenCY, comparándose con el grupo de control, de una manera
15 exploratoria para cada anticuerpo, excepto para SBA-MenY y anti-PSY, en términos de: (1) la diferencia entre el grupo de control (menos) los grupos de Hib-MenCY para el porcentaje de sujetos arriba de los cortes especificados, o con una respuesta de vacuna con su intervalo de confianza del 95 por ciento asintótico
20 estandarizado, (2) las proporciones de GMC o GMT del grupo de control sobre los grupos de Hib-MenCY con su intervalo de confianza del 95 por ciento. El grupo de control fue Menjugate para SBA-MenC y anti-PSC; el grupo de control para todos los demás antígenos fue el grupo ActHIB. Se hicieron las mismas comparaciones para evaluar
25 la diferencia entre cada par de formulaciones de Hib-MenCY para los

anticuerpos anti-PRP, SBA-MenC, anti-PSC, SBA-MenY, anti-PSY, y anti-tétanos.

Índices de seroprotección/seropositividad y GMC/Ts (cohorte de ATP para inmunogenicidad).

5

Tabla 7a. Anti-PRP (microgramos/mililitro)

Grupo	N	%≥0.15	LL	UL	≥1	LL	UL	GMC	LL	UL
Hib MenCY 2.5/5/5	74	100.0	95.1	100.0	97.3	90.6	99.7	6.441	5.315	7.805
Hib MenCY 5/10/10	76	100.0	95.3	100.0	98.7	92.9	100.0	7.324	5.877	9.127
Hib MenCY 5/5/5	70	100.0	94.9	100.0	92.9	84.1	97.6	5.577	4.375	7.110
Menjugate ^{MR}	74	98.6	92.7	100.0	89.2	79.8	95.2	4.465	3.399	5.865
ActHIB ^{MR}	74	100.0	95.1	100.0	94.6	86.7	98.5	5.714	4.538	7.195

10

15

Tabla 7b. SB-MenC (1/Dil)

Grupo	N	%≥1:8	LL	UL	≥1:128	LL	UL	GMT	LL	UL
Hib MenCY 2.5/5/5	69	100.0	94.8	100.0	98.6	92.2	100.0	1293.1	1027.7	1627.1
Hib MenCY 5/10/10	76	100.0	95.3	100.0	97.4	90.8	99.7	1065.6	858.8	1322.3
Hib MenCY 5/5/5	72	100.0	95.3	100.0	95.8	88.3	99.1	968.4	770.8	1216.6
Menjugate ^{MR}	74	100.0	95.1	100.0	98.6	92.7	100.0	1931.9	1541.2	2421.6
ActHIB ^{MR}	76	1.3	0.0	7.1	0.0	0.0	4.7	4.2	3.8	4.5

20

25

Tabla 7c. Anti-PSC (microgramos/mililitro)

Grupo	N	%≥0.3	LL	UL	≥2	LL	UL	GMC	LL	UL
Hib MenCY 2.5/5/5	63	100.0	94.3	100.0	98.4	91.5	100.0	12.02	9.90	14.59
Hib MenCY 5/10/10	65	100.0	94.5	100.0	100.0	94.5	100.0	12.09	10.59	13.81
Hib MenCY 5/5/5	61	100.0	94.1	100.0	98.4	91.2	100.0	9.95	8.34	11.87
Menjugate ^{MR}	62	100.0	94.2	100.0	100.0	94.2	100.0	15.36	12.67	18.62
ActHIB ^{MR}	63	1.6	0.0	8.5	0.0	0.0	5.7	0.15	0.15	0.16

Tabla 7d. SBA-MenY (1/Dil)

Grupo	N	%≥1:8	LL	UL	≥1:128	LL	UL	GMT	LL	UL
Hib MenCY 2.5/5/5	67	98.5	92.0	100.0	95.5	87.5	99.1	843.5	640.1	1111.7
Hib MenCY 5/10/10	68	100.0	94.7	100.0	97.1	89.8	99.6	1020.0	790.0	1316.8
Hib MenCY 5/5/5	69	98.6	92.2	100.0	89.9	80.2	95.8	741.8	538.0	1022.9
Menjugate ^{MR}	68	14.7	7.3	25.4	8.8	3.3	18.2	6.9	5.0	9.5
ActHIB ^{MR}	74	16.2	8.7	26.6	9.5	3.9	18.5	7.3	5.2	10.1

Tabla 7e. Anti-PSY (microgramos/mililitro)

Grupo	N	%≥0.3	LL	UL	≥2	LL	UL	GMC	LL	UL
Hib MenCY 2.5/5/5	67	100.0	94.6	100.0	100.0	94.6	100.0	19.22	15.42	23.95
Hib MenCY 5/10/10	70	100.0	94.9	100.0	98.6	92.3	100.0	19.09	15.44	23.59
Hib MenCY 5/5/5	72	100.0	95.0	100.0	97.2	90.3	99.7	15.83	12.64	19.82
Menjugate ^{MR}	66	3.0	0.4	10.5	0.0	0.0	5.4	0.16	0.15	0.17
ActHIB ^{MR}	69	0.0	0.0	5.2	0.0	0.0	5.2	0.15	0.15	0.15

Conclusión

Las formulaciones 2.5/5/5 y 5/10/10 dieron como resultado titulaciones más altas contra Hib, MenA, y MenC en términos de inmunogenicidad y resultados de SBA. Por consiguiente, la inclusión
5 de dosis más bajas del conjugado de Hib en una vacuna conjugada combinada dio resultados superiores.

La co-administración de Hib-MenCY con Infanrix penta y Prevenar dio resultados satisfactorios.

Ejemplo 5b - Efecto de la co-administración de HibMenCY con 10 Prevenar sobre la respuesta a los polisacáridos neumocócicos

Un aspecto adicional del estudio del Ejemplo 3 fue investigar el nivel de anticuerpos reproducidos contra los 7 polisacáridos neumocócicos presentes en la vacuna Prevenar con el objeto de evaluar el efecto de la co-administración de HibMenCY sobre la
15 titulación de anticuerpos reproducidos contra los polisacáridos neumocócicos.

Las GMCs y los porcentajes de los sujetos con los anticuerpos para los siete serotipos neumocócicos ≥ 0.05 microgramos/mililitro y ≥ 0.2 microgramos/mililitro, se muestran en la Tabla 8. Con excepción
20 del serotipo 6B, los índices de seropositividad para los componentes 7vPn estuvieron en el intervalo del 95.5 al 100 por ciento (concentraciones de anticuerpos ≥ 0.05 microgramos/mililitro) y del 93.9 al 100 por ciento (concentraciones de anticuerpos ≥ 0.2 microgramos/mililitro) a través de los grupos. Para el serotipo 6B, los
25 índices de seropositividad estuvieron en el intervalo de 88.4 a 98.6

por ciento (concentraciones de anticuerpos ≥ 0.05 microgramos/mililitro) y del 81.2 al 91.4 por ciento (concentraciones de anticuerpos ≥ 0.2 microgramos/mililitro) a través de los grupos (grupo de ActHIB: 92.3 por ciento ≥ 0.05 microgramos/mililitro; 86.2 por ciento ≥ 0.2 microgramos/mililitro).

Tabla 8a. Anti-4

	Grupo	No. en el grupo	% ≥ 0.05 $\mu\text{g/ml}$	% ≥ 0.2 $\mu\text{g/ml}$	GMC ($\mu\text{g/ml}$)
10	Hib-MenCY 2.5/5/5	69	100%	100%	2.101
	Hib-MenCY 5/10/10	70	100%	100%	2.049
	Hib-MenCY 5/5/5	69	100%	100%	2.023
	Menjugate ^{MR}	58	3.4%	1.7%	0.024
15	ActHib ^{MR}	66	100%	100%	2.062

Tabla 8b. Anti-6B

	Grupo	No. en el grupo	% ≥ 0.05 $\mu\text{g/ml}$	% ≥ 0.2 $\mu\text{g/ml}$	GMC ($\mu\text{g/ml}$)
20	Hib-MenCY 2.5/5/5	68	95.6%	85.3%	1.060
	Hib-MenCY 5/10/10	70	98.6%	91.4%	1.079
	Hib-MenCY 5/5/5	69	88.4%	81.2%	0.834
	Menjugate ^{MR}	63	4.8%	1.6%	0.027
25	ActHib ^{MR}	65	92.3%	86.2%	0.879

Tabla 8c. Anti-9V

Grupo	No. en el grupo	% ≥0.05 µg/ml	% ≥0.2 µg/ml	GMC (µg/ml)
Hib-MenCY 2.5/5/5	68	100%	100%	3.102
Hib-MenCY 5/10/10	71	98.6%	97.2%	2.363
Hib-MenCY 5/5/5	71	100%	100%	2.823
Menjugate ^{MR}	62	4.8%	1.6%	0.028
ActHib ^{MR}	67	98.5%	98.5%	2.651

Tabla 8d. Anti-14

Grupo	No. en el grupo	% ≥0.05 µg/ml	% ≥0.2 µg/ml	GMC (µg/ml)
Hib-MenCY 2.5/5/5	65	100%	98.5%	4.095
Hib-MenCY 5/10/10	65	100%	100%	5.592
Hib-MenCY 5/5/5	68	100%	100%	4.309
Menjugate ^{MR}	49	49%	14.3%	0.062
ActHib ^{MR}	65	100%	98.5%	4.372

Tabla 8e. Anti-18C

Grupo	No. en el grupo	% ≥0.05 µg/ml	% ≥0.2 µg/ml	GMC (µg/ml)
Hib-MenCY 2.5/5/5	67	98.5%	98.5%	3.518
Hib-MenCY 5/10/10	71	100%	98.6%	2.969
Hib-MenCY 5/5/5	72	100%	100%	2.936
Menjugate ^{MR}	65	7.7%	3.1%	0.029
ActHib ^{MR}	67	98.5%	97%	3.326

Tabla 8f. Anti-19F

Grupo	No. en el grupo	% ≥0.05 µg/ml	% ≥0.2 µg/ml	GMC (µg/ml)
Hib-MenCY 2.5/5/5	65	100%	100%	2.303
Hib-MenCY 5/10/10	67	98.5%	98.5%	1.846
Hib-MenCY 5/5/5	66	100%	100%	2.061
Menjugate ^{MR}	56	12.5%	3.6%	0.030
ActHib ^{MR}	65	100%	96.9%	1.881

Tabla 8g. Anti-23F

Grupo	No. en el grupo	% ≥0.05 µg/ml	% ≥0.2 µg/ml	GMC (µg/ml)
Hib-MenCY 2.5/5/5	66	98.5%	97%	2.581
Hib-MenCY 5/10/10	68	97.1%	94.1%	2.112
Hib-MenCY 5/5/5	70	95.7%	95.7%	2.098
Menjugate ^{MR}	59	5.1%	0.0%	0.027
ActHib ^{MR}	66	95.5%	93.9%	1.988

Conclusión

La co-administración de las tres formulaciones de HibMenCY con Prevenar condujo a respuestas inmunes satisfactorias contra los siete serotipos neumocócicos. El serotipo 6B es un inmunógeno difícil contra el cual provocar una respuesta. En el caso del 6B, se alcanzó una GMC y un porcentaje más altos de sujetos que llegaron a los dos niveles umbral utilizando las formulaciones de dosis más baja de Hib de HibMenC. Por consiguiente, los usos de vacunas conjugadas de Hib de dosis más baja para la co-administración con los conjugados de polisacáridos neumocócicos conduce a una mejor respuesta contra el antígeno 6B.

Ejemplo 6 - Estudio clínico en fase II administrando HibMenCY de una manera concomitante con Infanrix penta de acuerdo con un programa de 2, 3, y 4 meses

Diseño del estudio: Un estudio de múltiples centros

124

controlado, en fase II, abierto (parcialmente doble-ciego*), de selección aleatoria, con cinco grupos recibiendo un programa primario de tres dosis con vacunas como sigue:

Grupo Hib-MenCY 2.5/5/5: Hib-MenCY (2.5/5/5) + Infanrix^{MR} penta.

5 Grupo Hib-MenCY 5/10/10: Hib-MenCY (5/10/10) + Infanrix^{MR} penta.

Grupo Hib-MenCY 5/5/5: Hib-MenCY (5/5/5) + Infanrix^{MR} penta.

Grupo Hib-MenC: Hib-MenC (5/5) + Infanrix^{MR} penta.

Grupo Menjugate: Menjugate^{MR**} + Infanrix^{MR} hexa (control).

*Hib-MenCY 2.5/5/5, Hib-MenCY 5/10/10 y Hib-MenC se
10 administraron de una manera doble-ciega, mientras que el grupo de HibMenCY 5/5/5 y el grupo de Menjugate fueron abiertos.

**Menjugate^{MR} fue la vacuna que se administró a todos los sujetos en el grupo.

Vacunación a los +/- 2, 3, 4 meses de edad (mes del estudio 0,
15 mes 1, y mes 2), y muestras de sangre (3.5 mililitros) de todos los sujetos antes de, y un mes de, la vacunación primaria (mes del estudio 0, y mes 3).

Vacuna de estudio, dosis, modo de administración, número
20 **de lote:** Tres dosis inyectadas intramuscularmente a intervalos de un mes, a aproximadamente los 2, 3, y 4 meses de edad, como sigue:

Tabla 8. Vacunas administradas (estudio y control), grupo, programa/sitio, y dosis

5	Grupo	Programa (meses de edad)	Dosis de vacuna administrada Sitio-muslo superior izquierdo	Vacuna concomitante administrada Sitio-muslo superior derecho
10	Hib-MenCY 2.5/5/5	2, 3, y 4	Hib (2.5µg)- MenC-TT (5µg)-MenY-TT (5 µg)	DTPa-HBV-IPV (Infanrix ^{MR} penta)
	Hib-MenCY 5/10/10	2, 3, y 4	Hib (5µg)-MenC-TT (10µg)-MenY-TT (10µg)	DTPa-HBV-IPV (Infanrix ^{MR} penta)
	Hib-MenCY 5/5/5	2, 3, y 4	Hib (5µg)-MenC-TT (5µg)-MenY-TT (5µg)	DTPa-HBV-IPV (Infanrix ^{MR} penta)
15	Hib-MenC	2, 3, y 4	Hib (5µg)-Men C (5µg)	DTPa-HBV-IPV (Infanrix ^{MR} penta)
	Menjugate ^{MR}	2, 3, y 4	Menjugate ^{MR}	DTPa-HBV-IPV/Hib (Infanrix ^{MR} hexa)

20 **Inmunogenicidad:** Medición de titulaciones/concentraciones de anticuerpos contra cada antígeno de 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, anti-PSC y anti-PSY, anti-PRP, anti-T, anti-FHA,
25 anti-PRN y anti-PT. Utilizando la actividad bactericida en suero

contra los serogrupos C y Y de *N. meningitidis* (SBA-MenC y SBA-MenY, corte: 1:8 y 1:128); ensayos ELISA con cortes: ≥ 0.3 microgramos/mililitro y ≥ 2 microgramos/mililitro para los polisacáridos anti-*N. meningitidis* serogrupos C y Y (anti-PSC IgG y anti-PSY IgG); ≥ 0.15 microgramos/mililitro y ≥ 1.0 microgramos/mililitro para el polisacárido de poli-ribosil-ribitol-fosfato de Hib (anti-PRP IgG); 5EL.U/mililitro para anti-FHA, anti-PRN, anti-PT; ≥ 0.1 Unidades Internacionales/mililitro de anti-toxoide de tétanos (anti-TT). Solamente un mes después de la tercera dosis (mes 3) en todos los sujetos para: anti-D, anti-HBs, y anti-polio 1, 2, y 3. Utilizando ensayos ELISA con cortes: 0.1 Unidades Internacionales/mililitro para anti-difteria (anti-D); ≥ 10 miliunidades internacionales/mililitro para anti-hepatitis B (anti-HBs); y corte de prueba de microneutralización: 1:8 para anti-polio tipo 1, 2, y 3 (anti-polio 1, 2, y 3).

Métodos estadísticos:

Se calcularon los índices de seroprotección/seropositividad y las concentraciones/titulaciones medias geométricas (GMCs/GMTs) con intervalos de confianza del 95 por ciento (95% CI) por grupo, para SBAS-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 anti-difteria, anti-HBs, anti-Polio 1, anti-Polio 2, y anti-Polio 3 un mes después de la vacunación. También se calculó la respuesta de la vacuna (aparición de anticuerpos en sujetos inicialmente seronegativos, o cuando menos mantenimiento

de las concentraciones de anticuerpos en los sujetos inicialmente seropositivos) con un intervalo de confianza del 95 por ciento para anti-PT, anti-PRN, y anti-FHA, un mes después de la vacunación. También se presentan las curvas acumulativas inversas para cada anticuerpo en el mes 3. Se evaluaron las diferencias entre los grupos de HibMenCY y HibMenC, comparándose con el grupo de control de Menjugate^{MR}, de una manera exploratoria para cada anticuerpo, con la excepción de SBAMenY y anti-PSY, en términos de: (1) la diferencia entre el grupo de Menjugate^{MR} (menos) los grupos de HibMenCY y HibMenC, para el porcentaje de sujetos arriba de los cortes especificados, o con una respuesta de vacuna con su intervalo de confianza del 95 por ciento asintótico estandarizado, (2) las proporciones de GMC ó GMT del grupo de Menjugate^{MR} sobre los grupos de HibMenCY y HibMenC con su intervalo de confianza del 95 por ciento. Se hicieron las mismas comparaciones para evaluar la diferencia entre cada par de formulaciones de Hib-MenCY para los anticuerpos anti-PRP, SBA-MenC, anti-PSC, SBA-MenY, anti-PSY, y anti-TT.

Se calcularon las incidencias globales de los síntomas locales y generales solicitados por grupo de acuerdo con el tipo de síntoma, su intensidad, y su relación con la vacunación (como porcentajes de los sujetos que reportaron síntomas generales, locales, y cualesquiera síntomas solicitados dentro de los 8 días en seguida de la vacunación, y su intervalo de confianza del 95 por ciento exacto). Se calcularon las incidencias de síntomas no solicitados por grupo.

Para los síntomas de Grado 3, se proporcionaron establecimiento ≤ 48 horas, atención médica, duración, relación con la vacunación, y resultados. Se describieron completamente los Eventos Adversos Severos.

5 **Índices de seroprotección/seropositividad y GMC/Ts (cohorte de ATP para la inmunogenicidad).**

Tabla 9a. Anti-PRP (microgramos/mililitro)

Grupo	N % ≥ 0.15 LL UL				≥ 1 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 ^{MR}	71	100.0	94.9	100.0	80.3	69.1	88.8	2.60	1.97	3.43

Tabla 9b. SBA-MenC (Titulación)

Grupo	N % $\geq 1:8$ LL UL				$\geq 1:128$ 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 ^{MR}	71	100.0	94.9	100.0	100.0	94.9	100.0	3557.6	2978.8	4248.8

Tabla 9c. Anti-PSC (microgramos/mililitro)

Grupo	N	%≥0.3	LL	UL	≥2	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 ^{MR}	71	100.0	94.9	100.0	100.0	94.9	100.0	38.49	33.64	44.05

Tabla 9d. SBA-MenY (Titulación)

Grupo	N	%≥1:8	LL	UL	≥1:128	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 ^{MR}	71	19.7	11.2	30.9	9.9	4.1	19.3	7.5	5.4	10.4

Tabla 9e. Anti-PSY (microgramos/mililitro)

Grupo	N	%≥0.3	LL	UL	≥2	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 ^{MR}	71	5.6	1.6	13.8	1.4	0.0	7.6	0.17	0.15	0.19
-------------------------	----	-----	-----	------	-----	-----	-----	------	------	------

Tabla 9f. Anti-tétanos (IU/ml)

5	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
10	Hib MenC	74	100.0	95.1	100.0	3.15	2.73	3.64
	Menjugate ^{MR}	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^{MR} penta.
- Grupo Hib-MenCY 5/10/10: Hib-MenCY (5/10/10) + Infanrix^{MR} penta.
- 15 Grupo Hib-MenCY 5/5/5: Hib-MenCY (5/5/5) +Infanrix^{MR} penta.
- Grupo Hib-MenC: Hib-Men (5/5)+ Infanrix^{MR} hexa.
- Grupo Menjugate: Menjugate^{MR} + Infanrix^{MR} penta.

N = Número de sujetos con resultados disponibles. % = porcentaje de sujetos con concentración/titulación dentro del intervalo especificado.

20 GMC/T: Concentración/titulación media geométrica; 95% CI = intervalo de confianza del 95 por ciento; LL = límite inferior; UL = límite superior.

Conclusión

25 Las respuestas inmunes contra Hib y MenC fueron superiores

utilizando las dos formulaciones con dosis reducidas de Hib. Para MenY, se vio una mejor respuesta de SBA utilizando las formulaciones 2.5/5/5 y 5/10/10, comparándose con la formulación 5/5/5.

5

10

15

20

25

REIVINDICACIONES

1. Una composición inmunogénica, la cual comprende un conjugado de sacárido de Hib, y cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales, en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido más baja que la dosis de sacárido promedio de todos los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.
2. La composición inmunogénica de la reivindicación 1, en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis más baja que la dosis de sacárido cada uno de los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.
3. La composición inmunogénica de la reivindicación 1 o 2, en donde los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden un sacárido capsular de *N. meningitidis* derivado de una cepa seleccionada del grupo que consiste de los serogrupos A, B, C, W135 y Y.
4. La composición inmunogénica de la reivindicación 3, en donde los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden sacárido capsular serogrupo C (MenC) de *N. meningitidis*.

5. La composición inmunogénica de la reivindicación 3 o 4, en donde los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden sacárido capsular serogrupo Y (MenY) de *N. meningitidis*.
- 5
6. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 3-5, en donde los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden sacárido capsular serogrupo A (MenA) de *N. meningitidis*.
- 10
7. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 3-6, en donde los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden sacárido capsular serogrupo W135 (MenW) de *N. meningitidis*.
- 15
8. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende una preparación de vesícula de membrana externa de *N. meningitidis* serogrupo B.
- 20
9. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden un sacárido capsular de cualquiera de los sacáridos capsulares de *S. pneumoniae* derivados de una cepa seleccionada del grupo que consiste de los serotipos 1,
- 25
- 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C,

19A, 19F, 20, 22F, 23F o 33F.

10. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales comprenden un sacárido capsular de *S. typhi* Vi.

11. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde la dosis de conjugado de sacárido de Hib está entre 0.1 y 9 μg , 1 y 5 μg o 2 y 3 μg de sacárido.

12. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde la dosis de cada uno de los cuando menos dos conjugados de sacárido adicionales está entre 2 y 20 μg , 3 y 10 μg o 4 y 7 μg de sacárido.

13. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde la dosis de sacárido del conjugado de sacárido de Hib es de menos de 90%, 75% o 60%, o está entre 20% y 60% o alrededor de 50% de la dosis de sacárido promedio de los cuando menos dos conjugados de sacáridos adicionales.

14. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde la dosis de sacárido del conjugado de sacárido de Hib es de menos de 90%, 75% o 60%, o está entre 20%-60% o es

alrededor de 50% de la dosis de sacárido de cada uno de los cuando menos dos conjugados de sacáridos adicionales.

15. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde se usa la misma proteína vehículo en el conjugado de Hib y dos o más de los cuando menos dos conjugados de sacárido bacteriano adicionales.

16. La composición inmunogénica de la reivindicación 15 cuando depende de la reivindicación 3, en donde se usa la misma proteína vehículo en el conjugado de Hib y el conjugado de MenA.

17. La composición inmunogénica de la reivindicación 15 o 16 cuando depende de la reivindicación 3, en donde se usa la misma proteína vehículo en el conjugado de Hib y el conjugado de MenC.

18. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 15-17 cuando dependen de la reivindicación 3, en donde se usa la misma proteína vehículo en el conjugado de Hib y el conjugado de MenY.

19. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 15-18 cuando dependen de la reivindicación 3, en donde se usa la misma proteína vehículo en el conjugado de Hib y el

conjugado de MenW.

20. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 15-19 cuando dependen de la reivindicación 8, en
5 donde se usa la misma proteína vehículo en el conjugado de sacárido capsular de *S.pneumoniae*.

21. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 15-20 cuando dependen de la reivindicación 9, en
10 donde se usa la misma proteína vehículo en el conjugado de Hib y el conjugado de sacárido capsular de *S. typhi* Vi.

22. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde el sacárido de Hib está conjugado a una proteína
15 vehículo seleccionada del grupo que consiste de: TT, DT, CRM197, fragmento C de TT, proteína D, OMPC y neumolisina.

23. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde los cuando menos dos sacáridos bacterianos
20 adicionales están conjugados a una proteína vehículo seleccionada del grupo que consiste de: TT, DT, CRM197, fragmento C de TT, proteína D, OMPC y neumolisina.

24. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior en donde la proporción de Hib a proteína vehículo en el
25

conjugado de sacárido de Hib está entre 1:5 y 5:1 (p/p).

25. La composición inmunogénica de la reivindicación 24, en donde la proporción de Hib a proteína vehículo en el conjugado de sacárido de Hib está entre 1:1 y 1:4, 1:2 y 1:3.5 o alrededor de 1:3 (p/p).

26. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior en donde el sacárido de Hib está conjugado a la proteína vehículo mediante un enlazante.

10

27. La composición inmunogénica de la reivindicación 26, en donde el enlazante es bifuncional.

28. La composición inmunogénica de la reivindicación 27, en donde el enlazante tiene dos grupos amino reactivos.

29. La composición inmunogénica de la reivindicación 27, en donde el enlazante tiene dos grupos ácido carboxílico reactivos.

30. La composición inmunogénica de la reivindicación 26, en donde el enlazante tiene un grupo amino reactivo en un extremo y un grupo ácido carboxílico reactivo en el otro extremo.

31. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 26-30, en donde el enlazante tiene entre 4 y 12

átomos de carbono.

32. La composición inmunogénica de la reivindicación 26 o 27, en donde el enlazante es ADH.

5

33. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-32, en donde el sacárido de Hib está conjugado a la proteína vehículo o enlazante usando CNBr o CDAP.

10 34. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde la proteína vehículo está conjugada al sacárido de Hib o al enlazante usando química de carbodiimida, opcionalmente química de EDAC.

15 35. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde los cuando menos dos conjugados de sacárido bacteriano adicionales tienen proporciones sacárido:vehículo de 1:5-5:1 o 1:1-1:4 (p/p).

20 36. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde cuando menos uno de los cuando menos dos conjugados de sacárido adicionales están conjugados directamente a una proteína vehículo.

25 37. La composición inmunogénica de la reivindicación 36, en donde

cuando menos uno de los dos sacáridos adicionales es Men W y/o Men Y, MenW y/o MenC, MenY y/o MenC, o MenW y MenC y MenY.

38. La composición inmunogénica de la reivindicación 36 o 37, en donde el cuando menos uno de los cuando menos dos sacáridos adicionales está conjugado directamente por química de CDAP.

39. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 36-38, en donde la proporción de sacárido Men W y/o Y a proteína vehículo está entre 1:0.5 y 1:2.

40. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 36-39, en donde la proporción de sacárido Men C a proteína vehículo está entre 1:0.5 y 1:2.

41. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior en donde uno o más de los cuando menos dos sacáridos adicionales están conjugado a la proteína vehículo mediante un enlazante.

42. La composición inmunogénica de la reivindicación 41, en donde el enlazante es bifuncional.

43. La composición inmunogénica de la reivindicación 42, en donde el enlazante tiene dos grupos amino reactivos.

44. La composición inmunogénica de la reivindicación 42, en donde el enlazante tiene dos grupos ácido carboxílico reactivos.
- 5 45. La composición inmunogénica de la reivindicación 42, en donde el enlazante tiene un grupo amino reactivo en un extremo y un grupo ácido carboxílico reactivo en el otro extremo.
- 10 46. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 41-45, en donde el enlazante tiene entre 4 y 12 átomos de carbono.
- 15 47. La composición inmunogénica de la reivindicación 41 o 42, en donde el enlazante es ADH.
48. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 41-47, en donde el o cada uno o más de los cuando menos dos sacáridos bacterianos adicionales está conjugado al enlazante con química de CDAP.
- 20 49. La composición inmunogénica de la reivindicación 41-48, en donde la proteína vehículo está conjugada al enlazante usando química de carbodiimida, opcionalmente usando EDAC.
- 25 50. La composición inmunogénica de una cualquiera de las

reivindicaciones 41-49, en donde los o cada uno o más de los cuando menos dos sacáridos bacteriano adicionales están conjugados al enlazante antes de conjugar la proteína vehículo al enlazante.

5

51. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 41-50, en donde MenA está conjugado a una proteína vehículo mediante un enlazante.

10

52. La composición inmunogénica de la reivindicación 58, en donde la proporción de sacárido MenA a proteína vehículo está entre 1:2 y 1:5.

15

53. La composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 41-52, en donde MenC está conjugado a una proteína vehículo mediante un enlazante.

20

54. La composición inmunogénica de la reivindicación 53, en donde la proporción de sacárido Men C a proteína vehículo está entre 1:2 y 1:5.

25

55. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde el sacárido MenA, cuando está presente, tiene un peso molecular superior a 50 kDa, 75kDa, 100kDa o un tamaño promedio entre 50-100 kDa, 55-90 kDa, o 60-80 kDa.

56. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde el sacárido MenC, cuando está presente, tiene un peso molecular superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa o un tamaño promedio entre 100-200 kDa o 150-200 kDa.

57. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde el sacárido MenY, cuando está presente, tiene un peso molecular superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa o un tamaño promedio entre 60-190 kDa, 70-180 kDa, 80-170 kDa, 90-160 kDa, 100-150 kDa o 110-140 kDa.

58. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde el sacárido de MenW, cuando está presente, tiene un peso molecular superior a 50 kDa, 75 kDa, 100 kDa o un tamaño promedio entre 60-190 kDa, 70-180 kDa, 80-170 kDa, 90-160 kDa, 100-150 kDa o 110-140 kDa.

59. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde MenC, cuando está presente, está cuando menos parcialmente O-acetilado, de tal manera que cuando menos el 30 por ciento de las unidades de repetición están O-acetiladas en cuando menos una posición.

60. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación

anterior, en donde MenY, cuando está presente, está cuando menos parcialmente O-acetilado, de tal manera que cuando menos el 20 por ciento de las unidades de repetición están O-acetiladas en cuando menos una posición.

5

61. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde MenW, cuando está presente, está cuando menos parcialmente O-acetilado, de tal manera que cuando menos el 30 por ciento de las unidades de repetición están O-acetiladas en cuando menos una posición.

10

62. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, en donde MenA, cuando está presente, está cuando menos parcialmente O-acetilado, de tal manera que cuando menos el 50 por ciento de las unidades de repetición están O-acetiladas en cuando menos una posición.

15

63. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, la cual no contiene sales de aluminio.

20

64. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior, la cual no tiene adyuvante.

65. La composición inmunogénica de cualquier reivindicación anterior que está amortiguada a pH entre 7.0 y 8.0.

25

66. Una vacuna que comprende la composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-65, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

5

67. Un kit de vacuna para su administración concomitante o en secuencia, el cual comprende dos composiciones inmunogénicas multivalentes para conferir protección en un hospedero contra una enfermedad causada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*,
 10 *Corynebacterium diphtheriae*, y *Haemophilus influenzae*, comprendiendo este kit un primer recipiente que comprende:

toxóide de tétanos (TT),

toxóide de difteria (DT), y

componentes de tosferina de células enteras o acelulares;

15 y un segundo recipiente que comprende la composición inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 65.

68. El kit de vacuna de la reivindicación 67, en donde el primer recipiente comprende además antígeno superficial de hepatitis B,
 20 opcionalmente adsorbido sobre fosfato de aluminio.

69. El kit de vacuna de la reivindicación 67 ó 68, en donde el primero o segundo recipiente comprende además virus de polio inactivado (IPV).

25

70. Un proceso para fabricar la composición inmunogénica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 65, el cual comprende el paso de mezclar un conjugado de sacárido de Hib con cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales, para formar una
5 composición en donde el conjugado de Hib está presente en una dosis de sacárido más baja que la dosis de sacárido promedio de todos los cuando menos dos conjugados de sacáridos bacterianos adicionales.
- 10 71. Un método para inmunizar a un hospedero humano contra meningitis, el cual comprende administrar al hospedero una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica, vacuna, o kit de una cualquiera de las reivindicaciones 1-69.
- 15 72. Un método para inmunizar a un hospedero humano contra una enfermedad causada por *Haemophilus influenzae*, el cual comprende administrar al hospedero una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica, vacuna, o kit de una cualquiera de las reivindicaciones 1-69.
- 20 73. Un método para inmunizar a un hospedero humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, el cual comprende administrar al hospedero una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica, vacuna, o kit de una cualquiera de las
25 reivindicaciones 3-69, en donde los cuando menos dos conjugados

de sacárido bacteriano adicionales comprenden un sacarárido capsular de *N. meningitidis* derivado de una cepa seleccionada del grupo que consiste de serogrupo A, B, C, W 135 y Y.

5 74. La composición inmunogénica, vacuna, o kit de una cualquiera de las reivindicaciones 1-69, para utilizarse en el tratamiento o en la prevención de meningitis.

75. La composición inmunogénica, vacuna, o kit de una cualquiera
10 de las reivindicaciones 1-69, para utilizarse en el tratamiento o en la prevención de una enfermedad causada por *Haemophilus influenzae*.

76. La composición inmunogénica, vacuna o kit de una cualquiera de las reivindicaciones 3-69, en donde los cuando menos dos
15 conjugados de sacárido bacteriano adicionales comprenden un sacarárido capsular de *N. meningitidis* derivado de una cepa seleccionada del grupo que consiste de MenA, MenB, MenC, MenW y MenY, para utilizarse en el tratamiento o prevención de una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*.

20

77. El uso de la composición inmunogénica, vacuna, o kit de una cualquiera de las reivindicaciones 1-69, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de meningitis.

25 78. El uso de la composición inmunogénica, vacuna, o kit de una

cualquiera de las reivindicaciones 1-69, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de enfermedad causada por *Haemophilus influenzae*.

- 5 79. El uso de la composición inmunogénica, vacuna o kit de una cualquiera de las reivindicaciones 1-69, en donde los cuando menos dos conjugados de sacárido bacteriano adicionales comprenden un sacárido capsular de *N. meningitidis* derivado de una cepa seleccionada del grupo que consiste de MenA, MenB, MenC, MenW y
10 MenY, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedades causadas por *Neisseria meningitidis*.

15

20

25

**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] 57
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [x] 2

COMPLETA [x]

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Fecha_
Conmutador



Fecha: 2007-12-27 16:42:17 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 148

rrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10

Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia