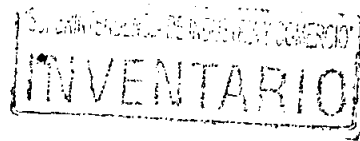


**Industria y Comercio**  
**SUPERINTENDENCIA**



SOLICITUD

**PATENTE DE INVENCION**

**08-75140**

21. EXPEDIENTE Nº \_\_\_\_\_

54. TÍTULO "VACUNAS DE CONJUGADO" \_\_\_\_\_

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 39/095 \_\_\_\_\_

71. SOLICITANTE GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. \_\_\_\_\_

DOMICILIO RIXENSART, BELGICA \_\_\_\_\_

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA ILOREDA RICAURTE \_\_\_\_\_

22. BOGOTÁ, D.C. 21 JUL 2000 T.P. 53.215 \_\_\_\_\_

# PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-075140- -00000-0000

Fecha: 2008-07-21 16:39:03  
Tra. 11 PATENTEIYII  
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACIONI  
Eve: 378 FASENACIONALI  
Folios: 154

## FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

23 Julio 2008

①

### SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención

☐ Patente de Modelo de Utilidad

☒ Capítulo I.

☐ Capítulo II.

②

### SOLICITANTE (71)

Nombre: **GLAXOSMITHKLINE  
BIOLOGICALS S.A.**

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

Nacionalidad o Domicilio: Rixensart,  
Bélgica.

Lugar de Constitución: Bélgica.

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

### IDENTIFICACION

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual \_\_\_\_\_

Número \_\_\_\_\_

③

### REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

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

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual \_\_\_\_\_

Número 39.690.713 TP 53.215

④

### INVENTOR(ES) (72)

Nombre: POOLMAN, Jan.

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

Nacionalidad o Domicilio: Bélgica.

⑤

### PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/070173

Fecha: 22/12/06

Publicación Internacional No. WO 2007/071786 A3

Fecha: 28/06/07

⑥

### Título (54)

"VACUNAS DE CONJUGADO"

⑦

### Clasificación Internacional (51) A61K 39/095

⑧

### Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

GB

GB

(32) Fecha

23/12/05

07/04/06

(31) Número de Solicitud

0526412.2

0607088.2

⑨

Comprobante de Pago No. 08-55.606

Fecha: 11 de Julio de 2008

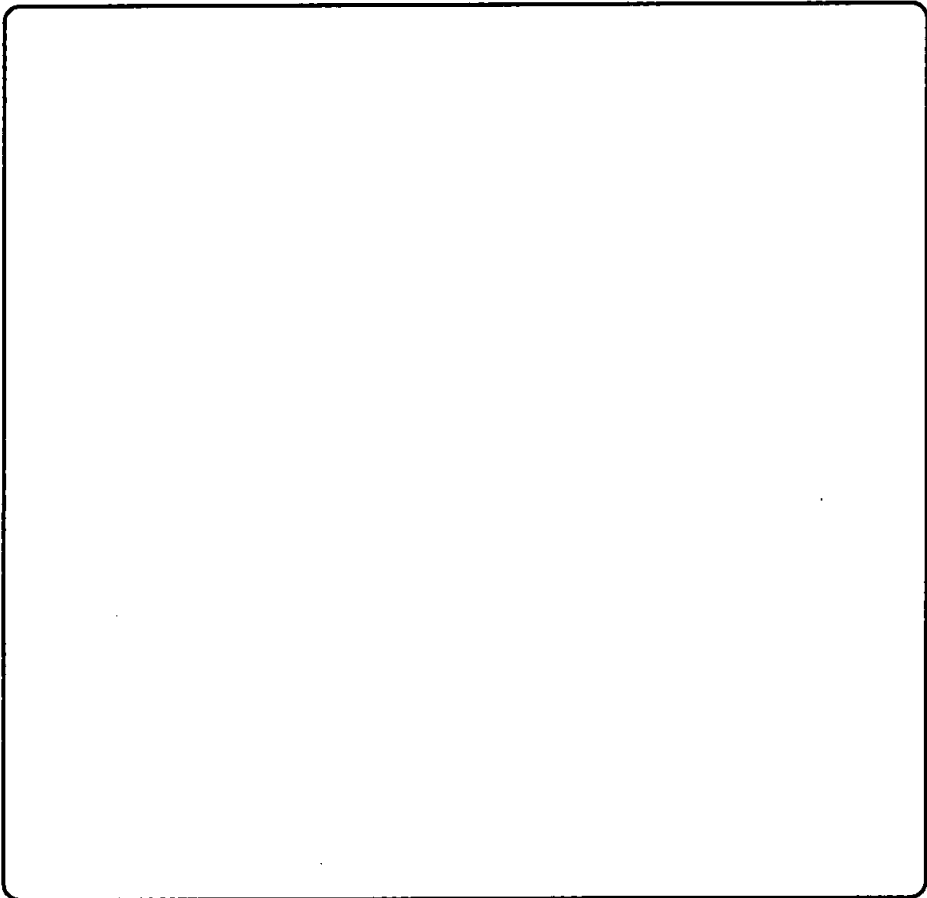
10

ANEXOS

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

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA: 

C.C. 39.690.713

T.P. 53.215

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 900176089-2

BOLETA DE CAJA : 08 - 55,606  
: JULIO 11 DE 2008

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-075140- -00000-0000

Fecha: 2008-07-21 16:39:03 Dep. 2020 NUECREACIONE  
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 154

\*\*\*\*\* CONSIGNACION \*\*\*\*\*

| ITEM      | TIPO PAGO    | BANCO           | CUENTA    | No. PAGO | FECHA PGO  | Vr. PAGO     |
|-----------|--------------|-----------------|-----------|----------|------------|--------------|
| 005-01-01 | CONSIGNACION | BANCO DE BOGOTA | 062754387 | 1859807  | 11/07/2008 | 6,040,000.00 |

\*\*\*\*\* CONCEPTO \*\*\*\*\*

| CONCEPTO              | CONCEPTO                            | TOTAL CONCEPTO |
|-----------------------|-------------------------------------|----------------|
| 005-01-01 SOLICITUDES | 1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN | 501,000.00     |
|                       | TOTAL :                             | \$ 501,000.00  |

SEISCIENTOS UN MIL PESOS

BOLETA : \_\_\_\_\_

BOLETA APLICADO AL EXPEDIENTE No. \_\_\_\_\_

## ANEXO

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

  
ALICIA LLOREDA RICÁURTE

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**

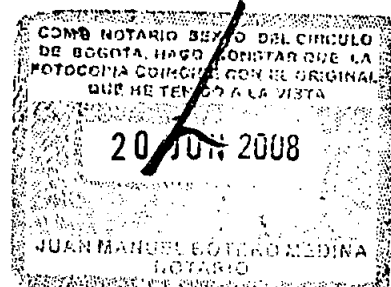
1. País: Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte  
Este documento público
2. ha sido firmado James Kerr Milligan
3. actuando como Notario Público
4. lleva el sello/estampilla de dicho Notario Publico

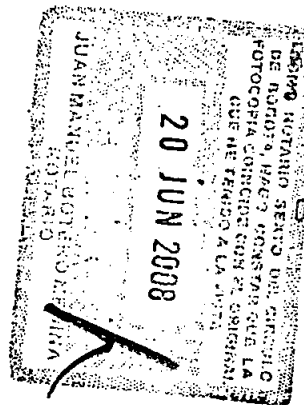
**CERTIFICADO**

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

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

NO SE ASUME  
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 SET 10 A 10:47

mes  
JEFE DE LEGALIZACIONES  
BOGOTÁ D.C.

Sello de la Oficina de Asuntos  
Exteriores y del Commonwealth

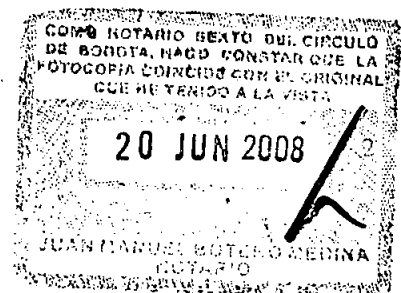
W. Glass  
Por el Secretario de Estado

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

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

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;

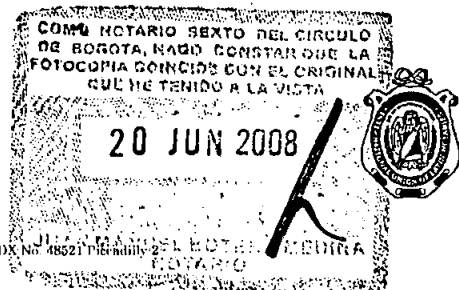
**QUE** el citado Señor Don **MARCUS JONATHAN WILLIAM DALTON** está debida y suficientemente autorizado para firmar documentos de esta clase, en virtud del Poder otorgado en su favor por la referida Sociedad fechado el 12 de junio de 2002, cuyo original he tenido a la vista.

**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.

24

**JAMES KERR MILLIGAN**  
Notario Público de Londres, Inglaterra



APOSTILLE

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

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

This public document/Le présent acte public

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

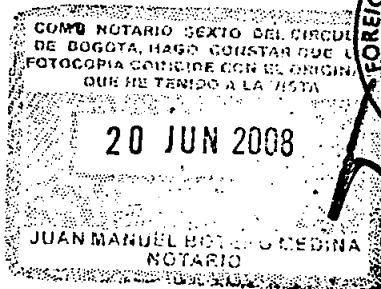
Certified/Attesté

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

8. Number/sous N° G 749037

9. Stamp:  
timbre:

10. Signature: WGLASS



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.

@/U

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**

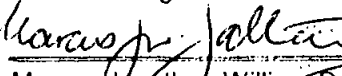
hereby appoint, **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, of Bogotá, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial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

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

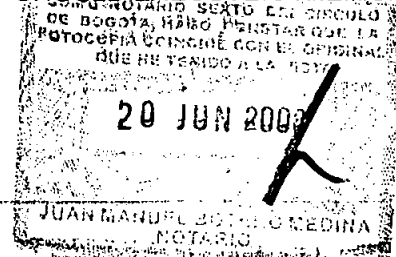
We also authorize doctors **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

31 AUG 2004

Given and signed this

  
Marcus Jonathan William DALTON  
Attorney and Authorised Official

NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE



CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

gica

{ss

de 200 , compareció a quien conozco y quien me consta que firmó el anterior documento, quien debidamente juramentado declaró y dijo que s

**GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, la compañía nombrada en el documento que antecede, sociedad debidamente organizada y existente conforme a las leyes de **Bélgica**, domiciliada en la ciudad de **Rixensart, Bélgica**, legalmente constituida a un período de duración que aún no ha terminado, que ejerce su objeto social; conforme a las leyes de

que el declarante está autorizado por dicha Compañía para conferir este poder; que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y en representación de la referida Compañía, es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento ha comprendido dentro del de la sociedad.

El suscrito Notario ha visto los Estatutos de la Corporación firmados en

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.

ary Public (Notario Público).

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

Belgium

{ss

On this day of 200 personally came

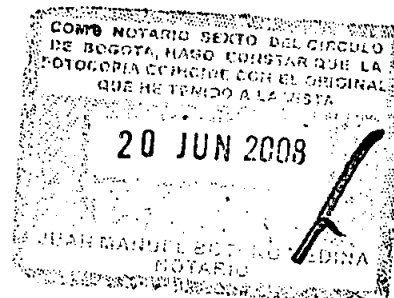
to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument, who being by me duly sworn did depose and say that he is the

of **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, the company named within, 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.



|                                                                                                                                   |                                                       |                                                                                                                                                                             |                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
|  <b>Industria y Comercio</b><br>SUPERINTENDENCIA |                                                       | <b>SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO</b><br><b>DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES</b><br><b>EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN</b><br><b>SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT</b> |                                   |
| (21) N° de solicitud:                                                                                                             |                                                       | (51) Int Cl: A61K 39/095                                                                                                                                                    |                                   |
| (22) Fecha de solicitud: 21-07-08                                                                                                 |                                                       | (71) Solicitante(s): GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.                                                                                                                       |                                   |
| (30) Prioridad                                                                                                                    | (31) <b>No. Prioridad</b>                             | (32) <b>Fecha</b>                                                                                                                                                           | (33) <b>País</b>                  |
|                                                                                                                                   | 0526412.2                                             | 23-12-05                                                                                                                                                                    | GB                                |
|                                                                                                                                   | 0607088.2                                             | 07-04-06                                                                                                                                                                    | GB                                |
|                                                                                                                                   |                                                       | (72) Inventor(es): POOLMAN, Jan.                                                                                                                                            |                                   |
|                                                                                                                                   |                                                       | (74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE                                                                                                                                     |                                   |
| (85)                                                                                                                              | Fecha límite inicio fase nacional: 23-07-08           |                                                                                                                                                                             | (87) Publicación internacional    |
| (86)                                                                                                                              | Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT |                                                                                                                                                                             | Fecha: 28-06-07                   |
|                                                                                                                                   | Fecha de presentación de la solicitud: 22-12-06       |                                                                                                                                                                             | N° publicación: WO 2007/071786 A3 |
|                                                                                                                                   | No. de solicitud: PCT/EP2006/070173                   |                                                                                                                                                                             |                                   |
| (54) Título: VACUNAS DE CONJUGADO                                                                                                 |                                                       |                                                                                                                                                                             |                                   |

Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 1.-

Un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano una composición que comprende por lo menos dos de: (a) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo A y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo C y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; (c) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo W135 y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; y (d) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo Y e (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo, en donde se ha pre-inmunizado al paciente con (a) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo y/o (b) un conjugado de (i) de un sacárido capsular de un organismo distinto de *N. meningitidis* y de (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2006/070173

| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b><br>INV. A61K39/095 A61K39/09 A61K39/116                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                  |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b><br>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br>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)<br>EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, EMBASE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                  |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                  |
| Category*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                     | Relevant to claim No.                                            |
| X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | PEETERS C C A ET AL: "EFFECT OF CARRIER PRIMING ON IMMUNOGENICITY OF SACCHARIDE-PROTEIN CONJUGATE VACCINES" INFECTION AND IMMUNITY, vol. 59, no. 10, 1991, pages 3504-3510, XP000371706<br>ISSN: 0019-9567<br>cited in the application | 1-21                                                             |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | abstract<br>page 3504, right-hand column, paragraph 3<br>- page 3505, left-hand column, paragraph 4<br>page 3505, right-hand column, paragraph 3<br>- page 3509, right-hand column, paragraph 1<br>-----<br>-/--                       | 22-70                                                            |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                  |
| * Special categories of cited documents :<br>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance<br>*E* earlier document but published on or after the international filing date<br>*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)<br>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means<br>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed<br>*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<br>*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<br>*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.<br>*A* document member of the same patent family |                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                  |
| Date of the actual completion of the international search<br>25 June 2007                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                        | Date of mailing of the international search report<br>19/07/2007 |
| Name and mailing address of the ISA/<br>European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,<br>Fax: (+31-70) 340-3016                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                        | Authorized officer<br>MONTERO LOPEZ, B                           |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2006/070173

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                       |
|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Category*                                            | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                          | Relevant to claim No. |
| X                                                    | BURRAGE MOYA ET AL: "Effect of vaccination with carrier protein on response to meningococcal C conjugate vaccines and value of different immunoassays as predictors of protection" INFECTION AND IMMUNITY, vol. 70, no. 9, September 2002 (2002-09), pages 4946-4954, XP002352343 ISSN: 0019-9567 cited in the application  | 1-21                  |
| A                                                    | abstract<br>page 4947, left-hand column, paragraph 4 - right-hand column, paragraph 2<br>page 4951, right-hand column, paragraph 2 - page 4954, left-hand column, paragraph 6                                                                                                                                               | 45-70                 |
| X                                                    | OLANDER R-M ET AL: "Booster response to the tetanus and diphtheria toxoid carriers of 11-valent pneumococcal conjugate vaccine in adults and toddlers" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 20, no. 3-4, 12 November 2001 (2001-11-12), pages 336-341, XP004310138 ISSN: 0264-410X cited in the application | 1-44                  |
| A                                                    | the whole document                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 45-70                 |
| A                                                    | WO 2005/105141 A (CHIRON SRL [IT]; COSTANTINO PAULO [IT])<br>10 November 2005 (2005-11-10)<br>the whole document                                                                                                                                                                                                            | 1-21                  |
| A                                                    | WO 2005/004909 A (AVENTIS PASTEUR INC [US]; RYALL ROBERT P [US])<br>20 January 2005 (2005-01-20)<br>page 6, line 25 - page 7, line 9<br>page 9, line 18 - line 31<br>page 55, line 1 - page 65, line 1                                                                                                                      | 44-70                 |
| A                                                    | WO 02/080965 A (GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.)<br>17 October 2002 (2002-10-17)<br>page 2, line 18 - page 5, line 23<br>page 6, line 8 - page 8, line 16<br>page 13, line 5 - page 14, line 12<br>page 14, line 25 - page 18, line 32;<br>example 5                                                                       | 44-70                 |
|                                                      | -----<br>-/--                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                       |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2006/070173

| 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 02/00249 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOG [BE]; BOUTRIAU DOMINIQUE [BE]; CAPIAU CARINE) 3 January 2002 (2002-01-03)<br>page 1, line 22 - page 3, line 14<br>page 5, line 28 - page 6, line 3<br>page 8, line 16 - page 9, line 26; example 3<br>-----                                                                                                    | 44-70                                                      |
| P, X                                                 | WO 2006/075170 A (CHIRON SRL [IT]; MARSHALL CAMERON JOHN [GB])<br>20 July 2006 (2006-07-20)<br><br>page 3, paragraph 6 - page 5, paragraph 2<br>page 8, paragraph 2 - paragraph 3<br>page 9, paragraph 6 - last paragraph<br>page 16, paragraph 3<br>page 17, paragraph 1 - paragraph 2<br>page 17, paragraph 5 - page 18, paragraph 5; claims<br>----- | 1-21, 23,<br>26, 30,<br>31,<br>33-36,<br>39, 41,<br>42, 44 |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/EP2006/070173

## 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 1, 2, 5-24, and 28-66 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 compositions.
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:

see additional sheet

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.

15

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-21

Method for immunising a subject against *N. meningitidis* by administering a composition comprising at least two conjugates of *N. meningitidis* A, C, W135 or Y capsular saccharides with tetanus toxoid, wherein the subject has been preimmunised with Tetanus toxoid

---

2. claims: 22-44

Method for immunising a subject against *S. pneumoniae* by administering a composition comprising at least seven conjugates of *S. pneumoniae* capsular saccharides with diphtheria toxoid or tetanus toxoid, wherein the subject has been preimmunised with diphtheria toxoid or tetanus toxoid

---

3. claims: 45-70

Method for immunising a subject against *N. meningitidis*, *B. pertussis*, *C. tetani*, *C. diptheriae* and *S. pneumoniae* by administering a DTP vaccine, followed by a Strep and/of MenC vaccine, followed by a DTP vaccine, wherein the MenC and/or Strep vaccines comprise a conjugated capsular saccharide with diphtheria toxin or tetanus toxin; kits therefore

---

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2006/070173

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s)                                                                                                                                                                                                                                                                             | Publication<br>date                                                                                                                                                                                                                                      |
|-------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| WO 2005105141 A                           | 10-11-2005          | AU 2005237308 A1<br>CA 2564366 A1<br>CN 1976716 A<br>EP 1755662 A2                                                                                                                                                                                                                                     | 10-11-2005<br>10-11-2005<br>06-06-2007<br>28-02-2007                                                                                                                                                                                                     |
| WO 2005004909 A                           | 20-01-2005          | AU 2004255526 A1<br>BR PI0410423 A<br>CA 2524853 A1<br>CN 1819843 A<br>EP 1626737 A2                                                                                                                                                                                                                   | 20-01-2005<br>06-06-2006<br>20-01-2005<br>16-08-2006<br>22-02-2006                                                                                                                                                                                       |
| WO 02080965 A                             | 17-10-2002          | BR PI0208595 A<br>CA 2442865 A1<br>CN 1547485 A<br>CZ 20032698 A3<br>EP 1390066 A2<br>HU 0303996 A2<br>JP 2005508849 T<br>MX PA03008961 A<br>NO 20034410 A<br>UA 76952 C2<br>US 2004202668 A1<br>ZA 200307640 A                                                                                        | 21-02-2006<br>17-10-2002<br>17-11-2004<br>15-12-2004<br>25-02-2004<br>01-03-2004<br>07-04-2005<br>12-02-2004<br>25-11-2003<br>15-07-2003<br>14-10-2004<br>23-05-2005                                                                                     |
| WO 0200249 A                              | 03-01-2002          | AP 1695 A<br>AU 8189501 A<br>BG 107422 A<br>BR 0112057 A<br>CA 2412497 A1<br>CN 1449293 A<br>CZ 20024224 A3<br>EP 1296715 A2<br>HU 0301413 A2<br>JP 2004501873 T<br>MA 25824 A1<br>MX PA03000198 A<br>NO 20026175 A<br>NZ 523319 A<br>OA 12302 A<br>PL 360265 A1<br>SK 18432002 A3<br>US 2003180316 A1 | 31-12-2006<br>08-01-2002<br>30-09-2003<br>17-06-2003<br>03-01-2002<br>15-10-2003<br>14-05-2003<br>02-04-2003<br>28-08-2003<br>22-01-2004<br>01-07-2003<br>13-09-2004<br>26-02-2003<br>27-01-2006<br>24-10-2003<br>06-09-2004<br>05-08-2003<br>25-09-2003 |
| WO 2006075170 A                           | 20-07-2006          | NONE                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                          |

17

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau



(43) International Publication Date  
28 June 2007 (28.06.2007)

PCT

(10) International Publication Number  
**WO 2007/071786 A3**

(51) International Patent Classification:  
A61K 39/095 (2006.01) A61K 39/116 (2006.01)  
A61K 39/09 (2006.01)

(21) International Application Number:  
PCT/EP2006/070173

(22) International Filing Date:  
22 December 2006 (22.12.2006)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:  
0526412.2 23 December 2005 (23.12.2005) GB  
0607088.2 7 April 2006 (07.04.2006) GB

(71) Applicant (for all designated States except US): GLAXO-SMITHKLINE BIOLOGICALS SA [BE/BE]; Rue De L'institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

(72) Inventor; and

(75) Inventor/Applicant (for US only): POOLMAN, Jan [NL/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals s.a., Rue De L'institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

(74) Agents: LUBIENSKI, Michael John et al.; Glaxo-SmithKline, Corporate Intellectual Property CN925.1, 980 Great West Road, Brentford Middlesex TW8 9GS (GB).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, 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, GT, 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, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, 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).

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

(88) Date of publication of the international search report:  
13 September 2007

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: CONJUGATE VACCINES

(57) Abstract: The invention provides vaccines against *Neisseria meningitidis*, pneumococcus and D'Pa/w. In particular, it provides vaccines based on conjugated capsular saccharides from multiple meningococcal and/or pneumococcal serogroups. It further provides vaccine administration schemes for the immunisation of human patients with two or more of these vaccines.

WO 2007/071786 A3

# 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.<br>PCT/EP2006/070173 | International filing date (day/month/year)<br>22.12.2006 | Priority date (day/month/year)<br>23.12.2005 |
|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------|

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC  
INV. A61K39/095 A61K39/09 A61K39/116

Applicant  
GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS SA

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.

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                       |                                                                                                                                                                              |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Name and mailing address of the ISA:</p>  <p>European Patent Office - P.B. 5818 Patentlaan 2<br/>NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas<br/>Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl<br/>Fax: +31 70 340 - 3016</p> | <p>Date of completion of this opinion</p> <p>See form PCT/ISA/210</p> | <p>Authorized Officer</p> <p>MONTERO LOPEZ, B</p> <p>Telephone No. +31 70 340-3739</p>  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

**WRITTEN OPINION OF THE  
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.  
PCT/EP2006/070173

---

**Box No. 1 Basis of the opinion**

---

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

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

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

- ☐ the entire international application
- ☒ claims Nos. 1, 2, 5-24 and 28-66 with respect to industrial applicability

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 1, 2, and 5-24 and 28-66 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 13ter.1(a) or (b).
- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.
- ☐ See Supplemental Box for further details

---

**Box No. IV Lack of unity of invention**

---

1. ☒ In response to the invitation (Form PCT/ISA/206) to pay additional fees, the applicant has, within the applicable time limit:
- ☒ paid additional fees
  - ☐ paid additional fees under protest and, where applicable, the protest fee
  - ☐ paid additional fees under protest but the applicable protest fee was not paid
  - ☐ not paid additional fees
2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose not to invite the applicant to pay additional fees.
3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rule 13.1, 13.2 and 13.3 is
- ☐ complied with
  - ☒ not complied with for the following reasons:  
see separate sheet
4. Consequently, this report has been established in respect of the following parts of the international application:
- ☒ all parts.
  - ☐ the parts relating to claims Nos.

---

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

---

1. Statement

|                               |             |                                                           |
|-------------------------------|-------------|-----------------------------------------------------------|
| Novelty (N)                   | Yes: Claims | <u>1, 2, 5, 15, 21, 32, 33, 36, 42, 43, 45-67</u>         |
|                               | No: Claims  | <u>3, 5, 6-14, 16-20, 22-31, 34, 35, 37-41, 44, 68-70</u> |
| Inventive step (IS)           | Yes: Claims |                                                           |
|                               | No: Claims  | <u>1-70</u>                                               |
| Industrial applicability (IA) | Yes: Claims | <u>3, 4, 25-27, 67-70</u>                                 |
|                               | No: Claims  |                                                           |

2. Citations and explanations

see separate sheet

---

**Box No. VI Certain documents cited**

---

1. Certain published documents (Rules 43*bis*.1 and 70.10)  
and /or
2. Non-written disclosures (Rules 43*bis*.1 and 70.9)  
see form 210

---

**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 1, 2, 5-24 and 28-66 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 IV**

**Lack of unity of invention**

The present application relates to the field vaccination with conjugated capsular saccharides. Vaccination of subjects with conjugated capsular saccharides (meningococcal and pneumococcal conjugate vaccines), where the patient has been previously immunized with the carrier protein (tetanus or diphtheria toxoid) used in the conjugate vaccine are described in the prior art (Vaccine 2002, 20(3/4), 336-341; Infection and Immunity 2002, 70(9), 4946-4954 and Infection and Immunity 1991, 59(10), 3504-3510). In view of the prior art, the underlying application attempts to solve the problem of providing methods for immunizing patients previously challenged with tetanus or diphtheria toxoid against bacterial disease. The following solutions are proposed in the claims:

Invention 1: Method for immunising a subject against *N. meningitidis* by administering a composition comprising at least two conjugates of *N. meningitidis* A, C, W135 or Y capsular saccharides with tetanus toxoid, wherein the subject has been preimmunised with Tetanus toxoid

Invention 2: Method for immunising a subject against *S. pneumoniae* by administering a composition comprising at least seven conjugates of *S. pneumoniae* capsular saccharides with diphtheria toxoid or tetanus toxoid, wherein the subject has been preimmunised with diphtheria toxoid or tetanus toxoid.

Invention 3: Method for immunising a subject against *N. meningitidis*, *B. pertussis*, *C. tetani*, *C. diphtheriae* and *S. pneumoniae* by administering a DTP vaccine, followed by a Strep and/of MenC vaccine, followed by a DTP vaccine, wherein the MenC and/or Strep vaccines comprise a conjugated capsular saccharide with diphtheria toxin or tetanus toxin; kits therefore

Due to the fact that vaccination of subjects with conjugated capsular saccharides (meningococcal and pneumococcal conjugate vaccines), where the patient has been previously immunized with the carrier protein (tetanus or diphtheria toxoid) used in the conjugate vaccine have already been described in the state of the art, in view of the essential difference in the solutions proposed to the problem in terms of vaccine composition, and since no other technical features can be distinguished, which, in the light of the prior art, could be regarded as special technical features, the groups of claims are not linked by common or corresponding special technical features and define 3 different inventions not linked by a single general inventive concept. The application, hence does not meet the requirements of unity of invention as defined in Rules 13.1 and 13.2 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 03/094834 A (UNIVERSITEIT LEIDEN) 20 November 2003 (2003-11-20)
- D2: CARLA C.A.M. PEETERS ET AL.: "Effect of carrier priming on immunogenicity of saccharide-protein conjugate vaccines" INFECTION AND IMMUNITY, vol. 59, no. 10, 1991, pages 3504-3510, XP000371706
- D3: OLANDER R-M ET AL: "Booster response to the tetanus and diphtheria toxoid carriers of 11-valent pneumococcal conjugate vaccine in adults and toddlers" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 20, no. 3-4, 12 November 2001 (2001-11-12), pages 336-341, XP004310138 ISSN: 0264-410X cited in the application

D4: WO 02/080965 A (GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.) 17 October 2002  
(2002-10-17)

1. Claims 1, 2 and 5 refer to a method for immunising a human patient against a disease caused by *N. meningitidis* by administration of a combination of at least two conjugates of the capsular saccharide of serogroups A, C, W135 and Y and a tetanus toxoid, wherein the patient has been preimmunized with a tetanus toxoid.

2. Document D1 discloses a method for vaccinating against *N. meningitidis* infection with a composition comprising at least two conjugates of the capsular saccharide of serogroups A, C, W135 and Y (page 2, par. 4-9) and a carrier such as tetanus toxoid (page 3, last par. - page 4, par. 2).

2.1. In the light of the state of the art and the description of the application (pages 1-3), the problem to be solved consists in providing a method for avoiding the carrier-induced suppression effect when immunising against *N. meningitidis* with a combination of saccharide conjugates as a carrier. The solution proposed by the applicant consists in the preimmunization with the carrier. Such a solution has been already provided in D2, which discloses that carrier priming with TT does not affect an antibody response to a MenC-TT vaccine (page 3504, col. right, par. 1- page 3505, col. left, par. 1). The results are shown in table 2 and pages 3505-3506. It would be obvious for the skilled person to apply the teaching of D2 in order to solve the problem posed, thereby arriving at the claimed method. Claims 1, 2 and 5, therefore, do not involve an inventive step and contravene Article 33(3) PCT.

3. Claims 3, 4 and 6 relate to the use of a combination of at least two conjugates of the capsular saccharide of serogroups A, C, W135 and Y and a tetanus toxoid for the manufacture of a medicament for immunising a patient, wherein the patient has been preimmunized with tetanus toxoid.

3.1. It must be noticed that the feature of the patient being preimmunized with a tetanus toxoid constitutes a feature related to a method of treatment and is not

limiting for scope of a claim directed to the use of a composition for the manufacture of a medicament. Such a feature is therefore disregarded.

3.2. In the light of the objection above, the vaccine composition disclosed in D1 is identical to the one claimed, and therefore claims 3, 4 and 6 are not novel and do not comply with Article 33(2) PCT.

3.3. Dependent claims 7-12 relate as well to features of a method of treatment, not limiting to the scope of a second medical use claim and therefore they are not novel and contrary to Article 33(2) PCT.

3.4. Document D1 discloses as well that the saccharides may be fragmented to the desired size (page 3, par. 5-6) and bound to the carrier by an adipic acid linker (page 4, last par.). Other antigens may be included in the composition such as *S. pneumoniae*, *H. influenza* and *N. meningitidis* B saccharide antigens (page 10, par. 7 - page 11, last par.). Adjuvants are mentioned in page 7 and the composition is used in the prevention of meningitis (page 1, par.3) Claims 13, 14 and 16-20 therefore do not comply with Article 33(2) PCT.

3.5. Claims 15 and 21 relate to the amount of tetanus toxoid within the composition, which the skilled person would determine as appropriate without the need of exercising an inventive step. Claims 15 and 21 therefore, do not fulfill the conditions of Article 33(3) PCT.

4. Claims 22-44 refer to a method for immunising a human patient against a disease caused by *S. pneumoniae* by administration of a combination of at least two conjugates of *S. pneumoniae* capsular saccharides with diphtheria toxoid or tetanus toxoid, wherein the patient has been preimmunized with diphtheria toxoid or tetanus toxoid.

4.1. Document D3 discloses a method for immunizing human patients with an 11-valent pneumococcal conjugate saccharide vaccine with both carriers diphtheria and tetanus toxoid (page 337, col. right, par. 2), wherein the subjects had been previously immunized with diphtheria and tetanus toxoid (page 336, col. right, par. 2 - page 337, col. right, par. 2). Claims 22-31, 34, 35, 37-41, 44 are therefore not novel and contravene Article 33(2) PCT.

4.2. Claims 32, 33, 36, 42 and 43 relate to standard manipulations in the art which the skilled person would put into practice without the need of applying an inventive step. Consequently, claims 32, 33, 36, 42 and 43 do not fulfill the requirements of Article 33(3) PCT.

5. Claims 45-67 relate to a method for immunising a subject against *N. meningitidis*, *B. pertussis*, *C. tetani*, *C. diphtheriae* and *S. pneumoniae* by administering a DTP vaccine, followed by a Strep and/of MenC vaccine, followed by a DTP vaccine, wherein the MenC and/or Strep vaccines comprise a conjugated capsular saccharide with diphtheria toxin or tetanus toxin. Such a vaccination scheme has not been disclosed in the prior art, and therefore, claims 45-67 are novel and in accordance with Article 33(2) PCT.

5.1. Claims 68-70 refer to kits comprising respectively the vaccines required for visits 1, 2 or 3. Document D4 describes a vaccine kit with three containers comprising respectively DTP, a multivalent pneumococcal capsular saccharide conjugate vaccine and a MenC saccharide conjugate (page 4, line 16 - page 5, line 9). Therefore, claims 68-70 are not novel and contrary to Article 33(2) PCT.

5.2. The document D4 is regarded as being the closest prior art to the subject-matter of claims 45-70, and discloses (the references in parentheses applying to this document) a vaccine kit for immunizing a subject against *N. meningitidis*, *B. pertussis*, *C. tetani*, *C. diphtheriae* and *S. pneumonia*, comprising a first container comprising DT, TT, Pw; a second container comprising a multivalent pneumococcal capsular saccharide conjugate vaccine and a third container comprising a MenC saccharide conjugate (page 4, line 16 - page 5, line 23). The vaccines of the different containers are administered concomitantly at different sites, preferably at the same visit to the practitioner (page 5, line 25 - page 6, line 5). The subject is subsequently primed two times with an interval of 2-12 weeks (page 13, line 30 - page 14, line 23). In the light of the prior art, the problem to be solved consists in designing a vaccination schedule. The solution provided consists in the claimed vaccination schemes. However, the application does not provide any experimental support for the effect of such a immunization schedule. It is therefore considered that the problem is not solved an inventive step cannot be acknowledged for claims 45-67 (Article 33(3) PCT).

6. For the assessment of the present claims 1-67 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 VI**

**Certain documents cited**

Certain published documents

| Application No<br>Patent No | Publication date<br>(day/month/year) | Filing date<br>(day/month/year) | Priority date (valid claim)<br>(day/month/year) |
|-----------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------------------|
| GB2006/000120               | 20/7/2006                            | 13/1/2006                       | 14/1/2005                                       |

**Re Item VII**

**Certain defects in the international application**

1. Contrary to the requirements of Rule 5.1(a)(ii) PCT, the relevant background art disclosed in the documents D1, D3 and D4 is not mentioned in the description, nor are these documents identified therein.

2. General statements in the description which imply that the extent of protection may be expanded in a not precisely defined way are not allowable. The applicant is therefore kindly requested to delete the expression "incorporated by reference" wherever it appears in the description.

**Re Item VIII**

**Certain observations on the international application**

1. The expression "saccharides ..... shorter than the native capsular saccharides seen in meningococcus" in claim 13 is vague and unclear and leaves the reader in doubt as to the meaning of the technical features to which it refers, thereby rendering the definition of the subject-matter of said claims unclear, Article 6 PCT.

2. Claims 21, 37-39, 52 and 59-63 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.

## VACUNAS DE CONJUGADO

### RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

5           La invención proporciona vacunas contra *Neisseria meningitidis*, neumococo y DTPa/w. Particularmente se proporcionan las vacunas basadas en sacáridos capsulares conjugados de serogrupos meningocócicos y/o neumocócicos múltiples. Además se proporcionan esquemas de administración  
10 de vacuna para la inmunización de pacientes humanos con dos o más de estas vacunas.

15

20

25

## VACUNAS DE CONJUGADO

### Campo de la Invención

Esta invención se refiere a vacunas contra *Neisseria*  
5 *meningitidis* y neumococos, particularmente se refiere a las  
vacunas basadas en sacáridos capsulares conjugados de  
serogrupos múltiples meningocócicos y/o neumocócicos.

### Antecedentes de la Invención

En base al polisacárido capsular del organismo, doce  
10 serogrupos de *N. meningitidis* se han identificado (A, B, C, H, I,  
K, L, 29E, W135, X, Y y Z). El grupo A es el patógeno implicado  
más frecuentemente en la enfermedad epidémica en África  
Subsahariana. Los serogrupos B y C son responsables de la gran  
mayoría de casos en los Estados Unidos de Norteamérica y en la  
15 mayoría de los países desarrollados. Los serogrupos W135 e Y  
son responsables de los casos restantes en Estados Unidos de  
Norteamérica y países desarrollados.

Una vacuna tetravalente de polisacáridos capsulares de los  
serogrupos A, C, Y y W135 se ha conocido durante muchos años  
20 [1, 2]. Aunque es efectiva en adolescentes y adultos, induce una  
inmunorespuesta pobre y una duración corta de protección y no  
se puede utilizar en niños [por ejemplo referencia 3] debido a que  
los polisacáridos son antígenos independientes de las células T  
que inducen una inmunorespuesta débil que no puede ser  
25 aumentada. Los polisacáridos en esta vacuna no se conjugan [4].

Las vacunas de conjugado contra el serogrupo C se han aprobado para el uso humano, e incluyen Menjugate™ [5], Meningitec™ y NeisVac-C™. Las mezclas de conjugados de los serogrupos A+C se conocen [6-8] y se han reportado las mezclas de conjugados de los serogrupos A+C+W135+Y [9-13].

Aunque los conjugados meningocócicos son bien conocidos, aún no se han adaptado a los regímenes pediátricos existentes de inmunización, que para los países desarrollados implican comúnmente la vacuna de la hepatitis B al nacimiento, y, comienzan a los 2 meses, toda la difteria/tétanos/tosferina (D-T-P), conjugado de *H. influenzae* tipo b (Hib), inactivó el virus de la polio y los conjugados de neumococo a los 2 meses.

Al agregar las vacunas de conjugado a los regímenes existentes de inmunización, sin embargo, se debe tratar el problema de la supresión epitópica inducida por el portador (o la “supresión de portador”, que es generalmente conocida), particularmente la supresión que se presenta a partir del cebado con el portador. La “supresión de portador” es el fenómeno por el cual la pre-inmunización de un animal con una proteína portadora evita que más adelante se produzca una inmunorespuesta contra un nuevo epítipo antigénico que se presenta en el portador [14].

Según lo reportado en la referencia 15, donde varios antígenos de vacuna contienen el mismo componente de proteína (utilizado como un inmunógeno y/o como proteína portadora en un conjugado), entonces existe el potencial de interferencia entre los

antígenos. En la referencia 15, la inmunorespuesta contra un antígeno que fue conjugado a un portador de toxoide de tétanos (TT), fue suprimida mediante la inmunidad pre-existente contra TT.

5           La referencia 16 reporta de que manera una combinación de vacunas de D-T-P con una vacuna de conjugado de Hib, fue afectada dañinamente donde el portador para el conjugado de Hib fue el mismo que para el antígeno de tétanos de la vacuna de D-T-P. Los autores concluyen que este "fenómeno de supresión de portador", que se presenta a partir de la interferencia de un  
10           portador de proteína común, debe ser considerado al introducir las vacunas que incluyen los conjugados múltiples.

          En contraste a las referencias 15 y 16, la referencia 17 reporta que el cebado con toxoide de tétanos no tuvo ningún  
15           impacto negativo sobre la inmunorespuesta contra un conjugado de Hib-Tt administrado posteriormente, pero la supresión fue observada en pacientes con anticuerpos anti-Tt adquiridos maternalmente. En la referencia 18, sin embargo, un efecto de "supresión epitópica" fue reportado para un conjugado de péptido  
20           basado en Tt en los pacientes que tuvieron anticuerpos anti-Tt existentes resultantes de la vacunación de tétanos.

          En la referencia 19, fue sugerido que un conjugado que tiene CRM197 (un mutante desintoxicado de toxina de difteria) como el portador puede ser inefectivo en niños que no han  
25           recibido previamente la toxina de difteria como parte de una

vacuna (por ejemplo como parte de una vacuna de D-T-P o DT). Este trabajo fue desarrollado adicionalmente en la referencia 20, donde el efecto del cebado de portador mediante la inmunización de DT fue observado que persistió para la inmunización subsecuente con los conjugados de Hib. En la referencia 21, los autores encontraron que la pre-inmunización con una proteína portadora de toxoide de la difteria o tétanos redujo el aumento de los niveles de anticuerpo anti-Hib después de una inmunización subsecuente con el sacárido capsular de Hib conjugados a los portadores, con IgG1 e IgG2 afectados de la misma manera.

Las respuestas a las porciones de portador de los conjugados también fueron suprimidas. Además, fue observada una supresión específica sin epítipo más general, mientras se consideró que la pre-inmunización con un conjugado afecta las inmunorespuestas contra las porciones de portador y sacárido de un segundo conjugado que fue administrado cuatro semanas después.

El uso de diferentes proteínas portadoras en una sola vacuna de conjugado neumocócico polivalente se reporta en la referencia 22, con los portadores múltiples que son utilizados para evitar la supresión del portador. Los autores predicen que hay una carga máxima de una proteína portadora que se puede tolerar en una vacuna de conjugado polivalente sin la producción de una interferencia negativa. En la referencia 23 fue descrito que las vacunas de conjugado neumocócico que incluyen las

proteínas portadoras mezcladas produjeron, paralelamente a la respuesta anti-neumococo, respuestas de refuerzo no intencionales a los portadores.

En la referencia 24, una investigación de si los refuerzos de difteria y tétanos se podrían administrar con los conjugados del serogrupo C meningocócicos monovalentes, encontró que los títulos contra el conjugado meningocócico fueron reducidos donde el portador fue portador de toxoide de tétanos y donde el paciente había recibido la inmunización anterior con una vacuna que contiene tétanos.

Finalmente, la referencia 25 describe que la "exposición anterior a la proteína portadora puede mejorar o suprimir la respuesta del anticuerpo a los polisacáridos administrados en los conjugados de sacárido-proteína". Los conjugados usados en la referencia 25 utilizaron el toxoide de tétanos o el mutante CRM197 como la proteína portadora.

La situación referente al cebado y/o supresión del portador así se confunde, y permanece confusa si cualquier conjugado particular sufre de la supresión del portador o se beneficiará de un mejoramiento del cebado de portador. Las vacunas de conjugado meningocócico no estarán en una posición de integrarse o agregarse a los regímenes de inmunización pediátricos existentes hasta que se trate este problema. Además, puesto que algunos conjugados meningocócicos se deben administraras como mezclas tetravalentes (es decir cuatro

diferentes conjugados), entonces el potencial para la supresión de portador se vuelve incluso más riesgosa.

Además del problema de cebar un portador que tiene un impacto negativo sobre las inmunorespuestas contra los conjugados de sacárido, también puede ocurrir lo contrario, es decir la inmunización con un conjugado puede tener un impacto negativo sobre las inmunorespuestas contra el portador [26].

### **Descripción de la Invención**

#### ***Primer aspecto de la invención***

Ahora se ha encontrado que los conjugados meningocócicos (en un portador de toxoide de tétanos) se pueden administrar a los pacientes incluso cuando ya han recibido la proteína portadora, en forma de un inmunógeno anterior (por ejemplo en una inmunización de D-T-P o DT) o como una proteína portadora anterior (por ejemplo en un conjugado de Hib o vacuna de conjugado neumocócico)

La invención así proporciona un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano una composición que comprende por lo menos dos de: (a) un conjugado de (i) sacárido capsular del serogrupo A de *N. meningitidis* e (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo C de *N. meningitidis* e (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo, (c) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo

W135 de *N. meningitidis* e (ii) un toxoide de tétanos o derivado del mismo, y (d) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo Y de *N. meningitidis* e (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo, en donde el paciente se ha pre-inmunizado con (a) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo y/o (b) un conjugado (i) de un sacárido capsular de un organismo distinto de *N. meningitidis* y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo.

También proporciona un método para inmunizar un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano una composición que comprende por lo menos dos de: (a) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo A de *N. meningitidis* e (ii) un toxoide de tétanos; (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo C de *N. meningitidis* e (ii) un toxoide de tétanos, (c) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo W135 de *N. meningitidis* e (ii) un toxoide de tétanos, y (d) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo Y de *N. meningitidis* e (ii) un toxoide de tétanos, en donde el paciente se ha pre-inmunizado con (a) un toxoide de tétanos y/o (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular de un organismo distinto de *N. meningitidis* e (ii) un toxoide de tétanos.

Además se proporciona un uso de por lo menos dos de (a) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo A de *N. meningitidis* y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo,

(b) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo C de *N. meningitidis* y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; (c) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo W135 de *N. meningitidis* y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; y (d) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo Y de *N. meningitidis* y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo, en la fabricación de un medicamento para inmunizar un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, en donde se han pre-inmunizado al paciente con (a) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo y/o (b) un conjugado de (i) de un sacárido capsular de un organismo distinto de *N. meningitidis* y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo. También se proporciona un uso de por lo menos dos de: (a) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo A de *N. meningitidis* y (ii) un toxoide de tétanos, (b) un conjugado (i) de un sacárido capsular del serogrupo C de *N. meningitidis* y (ii) un toxoide de tétanos, (c) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo W135 de *N. meningitidis* e (ii) un toxoide de tétanos; y (d) un conjugado de (i) un sacárido capsular del serogrupo Y de *N. meningitidis* e (ii) un toxoide de tétanos, en la fabricación de un medicamento para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, en donde se han pre-inmunizado al paciente con (a) un toxoide de tétanos y/o (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular de un organismo distinto de *N. meningitidis* e (ii) un

toxoiide de tétanos.

La enfermedad meningocócica es preferiblemente meningitis, más preferiblemente meningitis bacteriana, y muy preferiblemente meningitis meningocócica. Así la invención se puede utilizar para proteger contra las infecciones meningocócicas que causan la meningitis.

Donde el antígeno de pre-inmunización es un derivado de un toxoiide de tétanos, entonces el derivado preferiblemente permanece inmunológicamente reactivo de manera cruzada con TT, y es preferiblemente un fragmento C.

#### ***Paciente pre-inmunizado***

El paciente que será inmunizado se ha pre-inmunizado con: (a) un toxoiide de tétanos o un derivado del mismo, y/o (b) un conjugado (i) de un sacárido capsular de un organismo distinto de *Neisseria meningitidis* e(ii) un toxoiide de tétanos o un derivado del mismo. La pre-inmunización común habrá incluido: un antígeno de toxoiide de tétanos, un conjugado capsular de sacárido de Hib que usa un portador de toxoiide de tétanos, y/o un conjugado de sacárido capsular neumocócico que usa un portador de toxoiide de tétanos.

El paciente habrá recibido por lo menos una dosis (por ejemplo 1, 2, 3 o más) de los antígenos de pre-inmunización, y la dosis (o la previa de las dosis múltiples) habrá sido administrada al paciente por lo menos 0.5, 1, 2, 4 o por lo menos seis (por ejemplo 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 36, 48, 60, 120, 180, 240, 300 o

más) meses antes de la inmunización con los conjugados meningocócicos de acuerdo a la invención. En un grupo preferido de pacientes, la pre-inmunización ocurrió dentro de un periodo de 3 años desde el nacimiento por ejemplo en un periodo de 2 años desde el nacimiento, en un periodo de 1 año desde el nacimiento, en un periodo de 6 meses desde el nacimiento, o incluso un periodo de 3 meses, 2 meses o 1 mes desde el nacimiento.

El paciente que se inmunizará de acuerdo a la invención será comúnmente un humano. El humano será generalmente de por lo menos 1 mes de edad por ejemplo por lo menos 2 meses, por lo menos 3 meses, por lo menos 4 meses, por lo menos 6 meses, por lo menos 2 años, por lo menos 5 años, por lo menos 11 años, por lo menos 17 años, por lo menos 40 años, por lo menos 55 años de edad, etc. un conjunto preferido de pacientes es de por lo menos 6 meses de edad. Otro conjunto preferido de pacientes está en el grupo de 2-55 años de edad, y otro conjunto preferido de pacientes está en el grupo de 11-55 años de edad. Un conjunto preferido adicional de pacientes es de menos de 11 años de edad por ejemplo 2-11 años de edad. En todos los casos, sin embargo, sin importar la edad, el paciente habrá sido pre-inmunizado según lo definido en la presente.

Donde el antígeno de pre-inmunización es un toxoide de tétanos entonces el paciente habrá recibido comúnmente el toxoide como el antígeno de T en una pre-inmunización de D-T-P o DT. Tales inmunizaciones se administran a niños recién nacidos

de 2, 3, y 4 meses de edad. Donde la inmunización incluye una vacuna de tosferina, la vacuna puede ser una vacuna de tosferina de célula integral o celular ('Pw'), pero es preferiblemente una vacuna de tosferina sin células ('Pa'). Las vacunas Pa de pre-inmunización incluirán generalmente uno, dos o tres de los siguientes antígenos de *B. pertussis* bien conocidos y bien caracterizados: (1) toxoide de tosferina ('PT'), desintoxicado por medios químicos o por mutagénesis dirigida al sitio por ejemplo el mutante 9K/129G [30], (2) hemaglutinina filamentosa ('FHA'), (3) pertactina (también conocida como "proteína de membrana externa de 69 kiloDaltons"). Las vacunas de tosferina sin células también pueden incluir el aglutinógeno 2 y/o el aglutinógeno 3. El antígeno 'D' en una pre-inmunización de D-T-P es comúnmente un toxoide de difteria.

Donde el antígeno de pre-inmunización es un toxoide de tétanos entonces el paciente puede haber recibido también o alternativamente el toxoide como la proteína portadora de un conjugado de proteína-sacárido. Tales conjugados incluyen el conjugado "PRP-T" de Hib.

Donde el antígeno de pre-inmunización es toxoide de tétanos entonces se habrá pre-inmunizado al paciente comúnmente con un conjugado de Hib y/o un conjugado neumocócico polivalente. Tales inmunizaciones se administran comúnmente a los niños recién nacidos de 2, 3, y 4 meses de edad. Los conjugados de Hib son bien conocidos (referencia 32).

Los conjugados neumocócicos también pueden utilizar un portador de toxoide de tétanos para uno o más de los sacáridos. El paciente también pudo haber sido pre-inmunizado con un conjugado meningocócico del serogrupo C ("MenC"). Los  
5 conjugados de MenC que utilizan el toxoide de tétanos como portador. Preferiblemente, sin embargo, se han pre-inmunizado al paciente con Hib y/o con el conjugado neumocócico, pero no con un conjugado de MenC. Si el paciente se ha pre-inmunizado con un conjugado de MenC entonces la vacuna administrada de  
10 acuerdo a invención puede o no incluir un conjugado del serogrupo C.

El toxoide de tétanos es una proteína bien conocida y bien caracterizada que puede ser obtenida tratando la toxina con un producto químico de inactivación, tal como formalina o  
15 formaldehído.

El resultado de la pre-inmunización es que el sistema inmunológico del paciente se ha expuesto a los antígenos de pre-inmunización. Por pre-inmunización con toxoide de tétanos (Tt), se entiende generalmente que el paciente habrá presentado  
20 una respuesta al anticuerpo anti-Tt (comúnmente para dar un título anti-Tt de  $>0.01$  IU/ml) y poseerá linfocitos de memoria B y/o T específicos para Tt es decir la pre-inmunización con Tt es comúnmente adecuada para producir una inmunorespuesta anamnésica anti-Tt en el paciente. Para la pre-inmunización  
25 donde Tt es un portador (o derivado) para un sacárido dentro de

un conjugado, entonces la pre-inmunización habrá producido una respuesta anti-sacárido y el paciente poseerá linfocitos de memoria B y/o T específicos para el sacárido, es decir la pre-inmunización es comúnmente adecuada para producir una inmunorespuesta anamnésica anti-sacárido en el paciente. La pre-inmunización fue preferiblemente adecuada para producir una inmunidad protectora en el paciente por ejemplo contra la enfermedad de tétanos.

Así los pacientes que se inmunizarán de acuerdo a la invención son distintos a los pacientes en general puesto que son miembros de un subconjunto de la población general cuyos sistemas inmunológicos ya han producido una inmunorespuesta a los antígenos de pre-inmunización, tal que la inmunización de acuerdo a la invención con un conjugado meningocócico que incluye un portador de toxoide de tétanos (o derivado del mismo) produzca una diferente inmunorespuesta en el subconjunto que en los pacientes que no han presentado previamente una inmunorespuesta a los antígenos de pre-inmunización. Los pacientes que se han pre-inmunizado con Tt (o derivado) como el portador de un conjugado (particularmente de un conjugado de Hib) son los preferidos. Particularmente los pacientes preferidos se han inmunizado con Tt (o derivado) como el portador de un conjugado y también con Tt como un inmunógeno sin conjugar.

Así como se ha pre-inmunización con un toxoide de tétanos (o derivado), en forma conjugada o no conjugada, el paciente

pudo haber sido pre-inmunizado con otros antígenos. Tales antígenos incluyen, pero no se limitan a: antígenos de tosferina - ver arriba; toxoide de difteria - ver arriba; *H. influenzae* tipo B - ver arriba; antígeno superficial de hepatitis B (HBsAg); virus de polio, tal como una vacuna de virus de polio inactivo (IPV); *Streptococcus pneumoniae* - ver arriba; virus de la influenza; BCG; antígenos del virus de la hepatitis A; virus de sarampión; virus de paperas; virus de la rubeola; virus de la varicela, etc. El paciente puede o no haber sido pre-inmunizado con uno o más conjugados de sacárido capsular meningocócico.

En algunas modalidades preferidas, cuando un paciente primero recibe un conjugado meningocócico, ya ha sido pre-inmunizado con Tt (o derivado). En otras modalidades, un conjugado meningocócico se administra a un paciente que ya ha sido pre-inmunizado con (i) Tt o un derivado e (ii) un conjugado meningocócico.

### **Conjugados**

La invención inmuniza a los pacientes con sacáridos conjugados. La conjugación se utiliza para mejorar la inmunogenicidad de los sacáridos, mientras los convierte de antígenos independientes de t a antígenos dependientes de t, así permitiendo el cebado para la memoria inmunológica. La conjugación es particularmente útil para las vacunas pediátricas [por ejemplo referencia 37] y es una técnica bien conocida [por ejemplo repasada en las referencias 38 a 46].

La composición usada de acuerdo a la invención comprende por lo menos dos conjugados meningocócicos, en donde cada conjugado comprende una proteína portadora de toxoide de tétanos (o derivado del mismo), y un sacárido capsular. Los  
5 sacáridos capsulares se eligen de los serogrupos meningocócicos A, C, W135 e Y, tal que las composiciones incluyan los sacáridos de 2, 3, o 4 de estos cuatro serogrupos. Las composiciones específicas comprenden los sacáridos de los serogrupos A y C, serogrupos A y W; serogrupos A e Y; serogrupos C y W135;  
10 serogrupos C e Y, serogrupos W135 e Y; serogrupos A y C y W135, serogrupos A y C e Y; serogrupos A y W135 e Y, serogrupos C y W135 e Y, serogrupos A y C y W135 e Y. Las composiciones que incluyen los sacáridos de los cuatro serogrupos son los más preferidos.

15 Los sacáridos capsulares de cada uno de estos cuatro serogrupos están bien caracterizados. El sacárido capsular de los meningococos del serogrupo A es un homopolímero de N-acetil-D-manosamina-1-fosfato unido a ( $\alpha 1 \rightarrow 6$ ), con la O-acetilación parcial en las posiciones C3 y C4. Los grupos acetilo se pueden  
20 remplazar con grupos de bloqueo para prevenir la hidrólisis [47], y tales sacáridos modificados aún son sacáridos del serogrupo A en el sentido de la presente invención. El sacárido capsular del serogrupo C es un homopolímero de ácido siálico unido a ( $\alpha 2 \rightarrow 9$ ) (ácido neuramínico de N-acetilo, o "NeuNAc"). La mayoría de las  
25 cepas del serogrupo C tienen grupos O-acetilo en C-7 y/o C-8 de

los residuos de ácido siálico, pero aproximadamente 15% de los aislados clínicos carecen de estos grupos O-acetilo [48,49]. La estructura del sacárido se escribe como  $\rightarrow 9$ )-Neu p NAc 7/8 OA( $\alpha$  2 $\rightarrow$ . El sacárido del serogrupo W135 es un polímero de las unidades de disacárido de galactosa de ácido siálico. Puesto que el sacárido del serogrupo C, tiene la O-acetilación variable, pero en las posiciones 7 y 9 de ácido siálico [50]. La estructura se escribe como:  $\rightarrow 4$ )-D-Neu p5Ac(7/9OAc)- $\alpha$ -(2 $\rightarrow$ 6) D-Gal- $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ . El sacárido del serogrupo Y es similar al sacárido del serogrupo W135, excepto que la unidad de repetición de disacárido incluye glucosa en lugar de galactosa. Puesto que el serogrupo W135, tiene la O-acetilación variable en las posiciones 7 y 9 de ácido siálico [50]. La estructura del serogrupo Y se escribe como  $\rightarrow 4$ )-D-Neu p5Ac(7/9OAc)- $\alpha$ -(2 $\rightarrow$ 6) D-Glc- $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ .

Los sacáridos usados de acuerdo a la invención se pueden O-acetilar según lo descrito anteriormente (por ejemplo con el mismo patrón de O-acetilación según lo observado en sacáridos capsulares nativos), o pueden estar parcial o totalmente O-acetilados en una o más posiciones de los anillos de sacárido, o pueden estar muy O-acetilados en relación a los sacáridos capsulares nativos.

Los sacáridos usados de acuerdo a la invención pueden ser más cortos que los sacáridos capsulares nativos observados en las bacterias. Así los sacáridos se pueden despolimerizar, con la despolimerización que ocurre después de la purificación pero

antes de la conjugación. La despolimerización reduce la longitud de cadena de los sacáridos. Un método de despolimerización implica el uso de peróxido de hidrógeno [9]. El peróxido de hidrógeno se agrega a un sacárido (por ejemplo para dar una  
5 concentración final de  $H_2O_2$  de 1%), y la mezcla entonces se incuba (por ejemplo a aproximadamente 55°C) hasta que se haya alcanzado la reducción deseada de la longitud de cadena. Otro método de despolimerización implica la hidrólisis de ácido [10]. Otros métodos de despolimerización son conocidos por el  
10 experto. Los sacáridos usados para preparar los conjugados para el uso de acuerdo a la invención pueden ser obtenidos por cualquiera de estos métodos de despolimerización. La despolimerización se puede utilizar para proporcionar una longitud de cadena óptima para la inmunogenicidad y/o para  
15 reducir la longitud de cadena para lograr una manejabilidad física de los sacáridos.

Las proteínas portadoras comunes para el uso en conjugados son toxinas o toxoides bacterianos, tal como la toxina de difteria (o su mutante CRM97) y la toxina de tétanos. Otras  
20 proteínas portadoras conocidas incluyen la proteína de membrana externa de *N. meningitidis*, péptidos sintéticos, proteínas de choque de calor, proteínas de tosferina, citosinas, linfocinas, hormonas, factores de crecimiento, proteínas artificiales que comprenden epítopes de células CD4+ T humanas múltiples de  
25 varios antígenos derivados de patógenos, proteína D de *H.*

*influenzae* no clasificable, proteína superficial neumocócica PspA, proteínas de absorción de hierro, toxina A o B de *C. difficile*, etc. De acuerdo a la invención, sin embargo, los conjugados meningocócicos incluyen una proteína portadora de toxoide de  
5 tétanos (o derivado del mismo, por ejemplo tal como el fragmento C). La conjugación covalente es preferida.

Es posible utilizar más de una proteína portadora en las composiciones. Así diferentes proteínas portadoras se pueden utilizar para diferentes serogrupos, por ejemplo los sacáridos del  
10 serogrupo A se pueden conjugar al toxoide de tétanos mientras que los sacáridos del serogrupo C se pueden conjugar al toxoide de difteria. También es posible utilizar más de una proteína portadora para un antígeno de sacárido particular por ejemplo los sacáridos del serogrupo A pueden estar en dos grupos, con  
15 alguno conjugado al toxoide de tétanos y otros conjugados al toxoide de difteria. Generalmente sin embargo, se prefiere utilizar la misma proteína portadora para todos los sacáridos meningocócicos en la composición, y más preferiblemente para todos los sacáridos (es decir incluyendo cualquiera de los  
20 conjugados no meningocócicos que puedan estar presentes). Es preferido que las composiciones/medicamentos de este aspecto de la invención no incluyan ningún toxoide de tétanos o difteria o proteína portadora de CRM197.

Una sola proteína portadora puede contener más de un  
25 antígeno de sacárido [51]. Por ejemplo, una sola proteína

portadora puede tener conjugados en ella a los sacáridos de los serogrupos A y C. Para alcanzar este objetivo, los sacáridos pueden ser mezclados antes de la reacción de conjugación. Generalmente sin embargo, es preferido tener conjugados separados para cada serogrupo. Los conjugados se mezclan preferiblemente para dar sustancialmente una relación de 1:1:1:1 (medida como la masa del sacárido) por ejemplo la masa del sacárido de cada serogrupo está dentro de +10% entre sí. Una cantidad común de antígeno meningocócico por serogrupo en una composición está entre 1 µg y 20 µg por ejemplo entre 2 y 10 µg por serogrupo, o aproximadamente 4 o 5 µg. Como alternativa a la relación de 1:1:1:1, una dosis doble del serogrupo A se puede utilizar (2:1:1:1).

Son preferidos los conjugados con una relación de sacárido:proteína (p/p) de entre 1:15 (es decir proteína excesiva) y 15:1 (es decir sacárido excesivo), preferiblemente entre 1:10 y 10:1, más preferiblemente entre 1:5 y 5:1. Se puede utilizar el exceso de proteína portadora por ejemplo 1:3.

Los conjugados se pueden utilizar en combinación con la proteína portadora libre [52]. Cuando una proteína portadora dada está presente en forma libre y conjugada en una composición de la invención, sin embargo; la forma sin conjugar es preferiblemente de no más de 5% de la cantidad total de proteína portadora en la composición en conjunto, y más preferiblemente presente en menos del 2% en peso. Similarmente, el sacárido sin

conjugar es preferiblemente de no más del 15% en peso de la cantidad total de sacárido.

Cualquier reacción de conjugación conveniente se puede utilizar, con cualquier enlace conveniente en caso de ser necesario.

El sacárido será activado o funcionalizado comúnmente antes de la conjugación. La activación puede implicar, por ejemplo, los reactivo de cianilación tal como CDAP (por ejemplo 1-ciano-4-dimetilamino piridinio tetrafluoroborato [53, 54, etc.]).  
Otras técnicas convenientes utilizan las carbodiimidas, hidrazidas, ésteres activos, norborano, ácido p-nitrobenzoico, N-hidroxisuccinimida, S-NHS, EDC, TSTU; ver también la introducción a la referencia 44.

Los enlaces vía un grupo enlace se pueden hacer usando cualquier procedimiento conocido, por ejemplo, los procedimientos descritos en las referencias 55 y 56. Un tipo de enlace implica la aminación reductiva del polisacárido, el acoplamiento del grupo amino resultante con un extremo de un grupo de enlazante de ácido adípico, y después el acoplamiento de una proteína al otro extremo del grupo de enlazante de ácido adípico [42, 57, 58]. Otros enlaces incluyen B-propionamido [59], nitrofenil-etilamina [60], haluros de haloacilo [61], enlaces glucosídicos [62], ácido 6-aminocapróico [63], ADH [64], porciones C4 a C12 [65], etc. Como una alternativa al uso de un enlace, se puede utilizar el enlace directo. Los enlaces directos a

la proteína pueden comprender la oxidación del polisacárido seguida por la aminación reductiva con la proteína; según lo descrito en, por ejemplo, las referencias 66 y 67.

Se puede hacer un proceso que implica la introducción de  
5 grupos amino en el sacárido (por ejemplo sustituyendo los grupos terminales =O por -NH<sub>2</sub>) seguida por la derivación con un diéster adípico (por ejemplo diéster de N-hidroxisuccinimido de ácido adípico) y la reacción con la proteína portadora.

En un método de conjugación, un sacárido se hace  
10 reaccionar con dihidrazida de ácido adípico. Para el serogrupo A, también se puede agregar la carbodiimida en esta etapa. Después de un período de reacción, se agrega el cianoborohidruro de sodio. El sacárido derivado entonces se puede preparar por ejemplo por ultrafiltración. El sacárido derivado entonces se  
15 mezcla con la proteína portadora (por ejemplo con un toxoide de tétanos), y se agrega la carbodiimida. Después de un período de reacción, se puede recuperar la conjugación. Otros detalles de este método de conjugación se pueden encontrar en la referencia 10. Los conjugados obtenibles con este método se pueden utilizar  
20 de acuerdo a la invención, por ejemplo los conjugados que comprenden un portador de toxoide de tétanos y un enlazante de ácido adípico. Los conjugados se preparan preferiblemente por separado y después se mezclan. Después de mezclar, la concentración de los conjugados mezclados se puede ajustar por  
25 ejemplo con solución salina estéril amortiguada con fosfato libre

de pirógenos. Cada conjugación, antes de mezclar, contiene preferiblemente no más de 15 µg de portador.

El resultado de administrar los conjugados meningocócicos de acuerdo a la invención es preferiblemente que, para cada serogrupo administrado, el paciente produce una respuesta del anticuerpo bactericida de suero (SBA); con el aumento del título de SBA (en comparación al paciente pre-inmunizado antes de recibir los conjugados meningocócicos mezclados) que es por lo menos de cuatro veces, y preferiblemente de por lo menos ocho veces. La prueba de SBA es una correlación estándar para la protección meningocócica. Otros detalles de las correlaciones serológicas para las vacunas meningocócicas se dan en la referencia 68.

***Componentes antigénicos adicionales de las composiciones usadas de acuerdo a la invención***

Además de los conjugados meningocócicos, las composiciones usadas de acuerdo a la invención pueden incluir opcionalmente 1, 2 ó 3 los siguientes antígenos adicionales:

1. Un sacárido capsular conjugado de *S. pneumoniae* [por ejemplo capítulo 23 de la referencia 32; referencias 69-71].

Es preferido incluir los sacáridos de más de un serotipo de *S. pneumoniae*. Por ejemplo; se conocen las mezclas de polisacáridos de 23 diferentes serotipos, así como las vacunas de conjugado con polisacáridos de entre de 5 y 11 diferentes serotipos [72]. Por ejemplo, Prevnar™ [31] contiene los antígenos

de siete serotipos (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, y 23F) con cada  
sacárido conjugado individualmente a CRM197 por aminación  
reductiva, con 2 µg de cada sacárido por dosis de 0.5 ml (4 µg del  
serotipo 6B), y con conjugados absorbidos en un adyuvante de  
5 aluminio de fosfato. Donde los conjugados neumocócicos se  
incluyen en las composiciones para el uso con la invención, la  
composición preferiblemente incluye por lo menos los serotipos  
6B, 14, 19F y 23F. Uno o más serotipos se pueden conjugar al  
toxoide de tétanos.

10        2.    Un sacárido capsular conjugado de *H. influenzae* B  
[por ejemplo el capítulo 14 de la referencia 32].

La proteína portadora para la conjugación puede ser  
CRM197, DT, toxoide de tétanos o un complejo de membrana  
externa de *N. meningitidis*. La porción de sacárido del conjugado  
15 puede ser un polisacárido (por ejemplo fosfato de poliribosilribitol  
integral (PRP)), pero también puede haber experimentado la  
despolimerización de polisacáridos capsulares para formar los  
oligosacáridos (por ejemplo MW de 1 a 5 kDa). Un conjugado de  
Hib comprende un oligosacárido unido covalentemente a CRM197  
20 vía un enlazante de ácido adípico [73, 74]. Otros utilizan en su  
lugar toxoide de tétanos. La administración del antígeno de Hib  
da lugar preferiblemente a una concentración de anticuerpo anti-  
PRP de >0.15 µg/ml, y más preferiblemente de >1 µg/ml. Donde  
una composición incluye un antígeno de sacárido de Hib, también  
25 preferiblemente no incluye un adyuvante de hidróxido de aluminio.

distinto del neumococo e (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo. La pre-inmunización común habrá incluido un antígeno de toxoide de difteria, un antígeno de toxoide de tétanos, un conjugado de sacárido capsular de Hib que usa un portador de toxoide de difteria o CRM197 o un portador de toxoide de tétanos, y/o un conjugado de sacárido capsular meningocócico que usa un portador de toxoide de difteria o CRM197 o un toxoide de tétanos.

El paciente habrá recibido por lo menos una dosis (por ejemplo 1, 2, 3 o más) de los antígenos de pre-inmunización, y la dosis (o la primera de las dosis múltiples) habrá sido administrada al paciente por lo menos 0.5, 1, 2, 4 o por lo menos seis (por ejemplo 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 36, 48, 60, 120, 180, 240, 300 o más) meses antes de la inmunización con los conjugados meningocócicos de acuerdo a la invención. En un grupo preferido de pacientes, la pre-inmunización ocurrió en el periodo de 3 años desde el nacimiento por ejemplo en el periodo de 2 años desde el nacimiento, en el periodo de 1 año desde el nacimiento, en el periodo de 6 meses desde el nacimiento, o incluso en el periodo de 3 meses, 2 meses o 1 mes desde el nacimiento.

El paciente que se inmunizará de acuerdo a la invención será comúnmente un humano. El humano generalmente tendrá una edad de por lo menos 1 mes por ejemplo por lo menos 2 meses, por lo menos 3 meses, por lo menos 4 meses, por lo menos 6 meses, por lo menos 2 años, por lo menos 5 años, por lo

menos 11 años, por lo menos 17 años, por lo menos 40 años, por lo menos 55 años, etc. Un conjunto preferido de pacientes tienen una edad de por lo menos 6 meses. Un conjunto adicional preferido de pacientes está en el grupo de 2-55 años edad, y otro conjunto preferido de pacientes está en el grupo 11-55 años de edad. Un conjunto adicional preferido de pacientes tiene menos de 11 años de edad por ejemplo 2-11 años de edad. En todos los casos, sin embargo, sin importar la edad, el paciente habrá sido pre-inmunizado según lo definido en la presente.

Donde el antígeno de pre-inmunización es un toxoide de difteria o toxoide de tétanos, entonces el paciente habrá recibido comúnmente el toxoide como el antígeno 'D' o 'T', respectivamente, en la pre-inmunización de D-T-P o DT. Tales inmunizaciones se administran comúnmente a los niños recién nacidos de 2, 3, y 4 meses de edad. Donde la inmunización incluye una vacuna de tosferina, la vacuna puede ser una vacuna de tosferina de célula integral o celular ('Pw'), pero es preferiblemente una vacuna de tosferina sin células ('Pa'). las vacunas de PA de pre-inmunización incluirán generalmente uno, dos o tres de los siguientes antígenos de tosferina B bien conocidos y bien caracterizados: (1) un toxoide de tosferina ('PT'), desintoxicado por medios químicos o por la mutagénesis dirigida al sitio por ejemplo el mutante "9K/129G" [30], (2) hemaglutinina filamentosa ('FHA'), (3) pertactina (también conocida como 'proteína de membrana externa de 69

61

kiloDaltons'). Las vacunas de tosferina sin células también pueden incluir el aglutinógeno 2 y/o el aglutinógeno 3.

Donde el antígeno de pre-inmunización es un toxoide de difteria o toxoide de tétanos, entonces el paciente puede haber  
5 recibido también o alternativamente el toxoide como la proteína portadora de un conjugado de proteína-sacárido. Tales conjugados incluyen los conjugados de Hib 'PRP-D' o 'PRP-T' [ver la tabla 14-7 de la referencia 32] por ejemplo el producto ProHIBIT™.

10 Donde el antígeno de pre-inmunización es CRM197, entonces comúnmente se habrá pre-inmunizado al paciente con un conjugado de Hib y/o un conjugado neumocócico polivalente. Tales inmunizaciones se administran comúnmente a niños recién nacidos de 2, 3, y 4 meses de edad. Los conjugados de Hib que  
15 utilizan un portador de CRM197 incluyen los conjugados de 'HbOC' [la tabla 14-7 de la referencia 32] por ejemplo el producto HibTITER™. Los conjugados neumocócicos que utilizan un portador de CRM197 incluyen las mezclas PCV7 de 7 valencias por ejemplo la vacuna Prevnar™ [31]. El paciente también pudo  
20 haber sido pre-inmunizado con un conjugado meningocócico del serogrupo C ("MenC"). Los conjugados de MenC que utilizan el portador de CRM197 incluyen Meninvact™/Menjugate™ [5] y Meningitec™. Preferiblemente, sin embargo, el paciente se ha pre-inmunizado con Hib y/o un conjugado neumocócico, pero no  
25 con un conjugado de MenC. Si se ha pre-inmunizado al paciente

con un conjugado de MenC, entonces la vacuna administrada de acuerdo a la invención puede o no incluir un conjugado del serogrupo C.

Los toxoides de difteria y tétanos son proteínas bien conocidas y bien caracterizadas [por ejemplo ver el capítulo 13 de la referencia 32], que pueden ser obtenidos tratando la toxina con un químico de inactivación, tal como formalina o formaldehído. CRM197 también es bien conocido y bien caracterizado [33-36], y han sido utilizado ampliamente como portador en vacunas de sacárido conjugados.

CRM197 y DT comparten muchos epítopes de portador.

El resultado de la pre-inmunización es que el sistema inmunológico del paciente se ha expuesto a los antígenos de pre-inmunización. Por pre-inmunización con el toxoide de difteria o con el toxoide de tétanos, se entiende generalmente que el paciente habrá producido una respuesta del anticuerpo anti-DT o ant-Tt (comúnmente para dar un título anti-DT de  $>0.01$  IU/ml) y poseerá los linfocitos de memoria B y/o T específicos a Dt o Tt, es decir la pre-inmunización con Dt o Tt es comúnmente adecuada para producir una inmunorespuesta anamnésica anti-Dt o anti-Tt en el paciente. Para la pre-inmunización donde Dt o Tt (o derivado) es un portador para un sacárido dentro de un conjugado, entonces la pre-inmunización habrá producido una respuesta anti-sacárido y el paciente poseerá los linfocitos de memoria B y/o T específicos para el sacárido es decir la

pre-inmunización es comúnmente adecuada para producir una inmunorespuesta anti-sacárido anamnésica en el paciente. La pre-inmunización fue preferiblemente adecuada para producir la inmunidad protectora en el paciente por ejemplo contra la enfermedad de la difteria o tétanos.

Así los pacientes que se inmunizarán de acuerdo a la invención son distintos de los pacientes generales puesto que son miembros de un subconjunto de la población general cuyos sistemas inmunológicos ya han presentado una inmunorespuesta a los antígenos de pre-inmunización, tal que la inmunización de acuerdo a la invención con un conjugado neumocócico que incluye un portador de toxoide de difteria y/o toxoide de tétanos (o derivado de los mismos) produzca una diferente inmunorespuesta en el subconjunto que en los pacientes que no han presentado previamente una inmunorespuesta a los antígenos de pre-inmunización. Son preferidos los pacientes que han sido pre-inmunizados con Dt y/o Tt (o derivado) como el portador de un conjugado (particularmente un conjugado de Hib). Los pacientes particularmente preferidos se han pre-inmunizado con Dt y/o Tt (o derivado) como el portador de un conjugado y también con DT y/o el Tt como un inmunógeno sin conjugar.

Además de haber sido pre-inmunizado con un toxoide de difteria y/o con un toxoide de tétanos (o derivado), en forma conjugada o no conjugada, el paciente pudo haber sido pre-inmunizado con otros antígenos. Tales antígenos incluyen,

pero no se limitan a: los antígenos de tosferina - ver arriba; *H. influenzae* tipo B - ver arriba; antígeno superficial de hepatitis B (HBsAg); virus de polio, tal como una vacuna de virus de polio inactivo; conjugados de sacárido capsular meningocócico - ver  
5 arriba; virus de la influenza; BCG; antígenos del virus de hepatitis A; virus de sarampión; virus de paperas; virus de rubeola; virus de varicela; etc. Los pacientes pueden o no haber sido pre-inmunizados con uno o más conjugados de sacárido capsular neumocócico.

10 En algunas modalidades preferidas, cuando un paciente primero recibe un conjugado neumocócico, entonces ya ha sido pre-inmunizado con Dt y/o Tt (o derivado). En otras modalidades, un conjugado neumocócico se administra a un paciente que ya se ha pre-inmunizado con (i) Dt y/o Tt o un derivado y con (ii) un  
15 conjugado neumocócico.

### **Conjugados**

La invención inmuniza a los pacientes con sacáridos conjugados. La conjugación se utiliza para mejorar la inmunogenicidad de los sacáridos, mientras que los convierte de  
20 antígenos independientes de t a antígenos dependientes de t, permitiendo así el cebado para la memoria inmunológica. La conjugación es particularmente útil para las vacunas pediátricas [por ejemplo la referencia 37] y es una técnica bien conocida [por ejemplo revisada en las referencias 38 a 46].

25 Comúnmente las composiciones/medicamentos de

ejemplo, PrevNar™ [31] contiene los antígenos de siete serotipos (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, y 23F) con cada sacárido conjugado individualmente a CRM197 por aminación reductiva, con 2 µg de cada sacárido por dosis de 0.5 ml (4 µg de serotipo 6B), y con los  
5 conjugados absorbidos en un adyuvante de aluminio de fosfato. La composición preferiblemente incluye por lo menos los serotipos 6B, 14, 19F y 23F.

Los sacáridos capsulares de cada uno de estos serotipos son bien conocidos. Los sacáridos meningocócicos también son  
10 bien conocidos (ver arriba para la descripción de los sacáridos y de las combinaciones consideradas de sacáridos de serogrupo de la invención).

Los sacáridos usados de acuerdo a la invención se pueden O-acetilar (por ejemplo con el mismo patrón de  
15 O-acetilación según lo visto en sacáridos capsulares nativos), o pueden estar parcial o totalmente O-acetilados en una o más posiciones de los anillos de sacárido, o pueden estar muy O-acetilados en relación a los sacáridos capsulares nativos.

Los sacáridos usados de acuerdo a la invención pueden ser  
20 más cortos que los sacáridos capsulares nativos vistos en las bacterias. Así los sacáridos se pueden despolimerizar, con la despolimerización que ocurre después de la purificación pero antes de la conjugación. La despolimerización reduce la longitud de cadena de los sacáridos. Un método posible de  
25 despolimerización implica el uso de peróxido de hidrógeno [9]. El

67

peróxido de hidrógeno se agrega a un sacárido (por ejemplo para dar una concentración final de  $H_2O_2$  de 1%), y la mezcla entonces se incuba (por ejemplo a aproximadamente 55°C) hasta que se haya alcanzado una reducción deseada de la longitud de cadena.

5 Otro método de despolimerización implica la hidrólisis de ácido [10]. Otros métodos de despolimerización son conocidos por el experto. Los sacáridos usados para preparar los conjugados para el uso de acuerdo a la invención pueden ser obtenibles por cualquiera de estos métodos de despolimerización. La  
10 despolimerización se puede utilizar para proporcionar una longitud de cadena óptima para lograr la inmunogenicidad y/o para reducir la longitud de cadena para lograr la manejabilidad física de los sacáridos.

Las proteínas portadoras comunes para el uso en  
15 conjugados son toxinas o toxoides bacterianos, tal como la toxina de difteria (o su mutante CRM97) y la toxina de tétanos. Otras proteínas portadoras conocidas incluyen la proteína de membrana externa de *N. meningitidis*, péptidos sintéticos, proteínas de choque de calor, proteínas de tosferina, citosinas, linfocinas,  
20 hormonas, factores de crecimiento, proteínas artificiales que comprenden epítopes humanos múltiples de células CD4+ T de varios antígenos derivados de patógenos, proteína D de *H. influenzae* no clasificable, proteína superficial neumocócica PspA, proteínas de absorción de hierro, toxina A o B de *C. difficile*, etc.  
25 De acuerdo a la invención, sin embargo, los conjugados

neumocócicos incluyen una proteína portadora de toxoide de difteria y/o toxoide de tétanos (o derivados de los mismos, por ejemplo CRM197). Se prefiere la conjugación covalente.

Es posible utilizar más de una proteína portadora en las composiciones. Así diferentes proteínas portadoras se pueden utilizar para diferente serotipos por ejemplo el serotipo 7F se puede conjugar a la proteína D mientras que el sacárido del serotipo 18C se puede conjugar al toxoide de tétanos. También es posible utilizar más de una proteína portadora para un antígeno de sacárido particular por ejemplo el sacárido de serotipo 7F puede estar en dos grupos, con alguno conjugado a CRM197 y alguno conjugado a la proteína D. Generalmente sin embargo, se prefiere utilizar la misma proteína portadora para todos o la mayoría de los sacáridos neumocócicos en la composición. La composición de sacárido se puede conjugar a Dt y Tt, Dt y CRM197, CRM197 y Tt, y Dt, CRM197 y Tt. La proteína D se puede agregar a cualquiera de estas listas de portadores para conjugar (la mayoría) a los sacáridos. En una modalidad solamente 1 serotipo se conjuga a DT o CRM197 y/o solamente un se conjuga a Tt.

Una sola proteína portadora puede llevar más de un antígeno de sacárido [51]. Por ejemplo, una sola proteína portadora puede tener conjugados a ella a los sacáridos capsulares de los serotipos 7F y 18C. Para alcanzar este objetivo, los sacáridos pueden ser mezclados antes de la reacción

de conjugación. Generalmente sin embargo, se prefiere tener los conjugados separados para cada serotipo. Los conjugados se pueden mezclar para dar sustancialmente una relación de 1:1:1:1 (medida como la masa de sacárido) por ejemplo la masa de sacárido de cada serogrupo está dentro de +10% entre sí. Una la cantidad común de antígeno meningocócico por serogrupo en una composición está entre 1 µg y 20 µg por ejemplo entre 2 y 10 µg por serotipo.

Se pueden utilizar los conjugados con una relación de sacárido:proteína (p/p) de entre 1:15 (es decir exceso de proteína) y 15:1 (es decir exceso de sacárido), preferiblemente entre 1:10 y 10:1, más preferiblemente entre 1.5 y 5:1.

Los conjugados se pueden utilizar en combinación con la proteína portadora libre [52]. Cuando una proteína portadora dada está presente en forma libre y conjugada en una composición de la invención, sin embargo, la forma sin conjugar es preferiblemente de no más de 5% de la cantidad total de proteína portadora en la composición en conjunto, y más preferiblemente presente en menos del 2% en peso. Similarmente, el sacárido sin conjugar es preferiblemente de no más de 15% en peso de la cantidad total de sacárido.

Cualquier reacción de conjugación conveniente se puede utilizar, con cualquier enlace conveniente en caso de ser necesario (ver arriba en la misma las referencias para las reacciones de conjugación comunes que se pueden utilizar en el

actual aspecto de la invención). Si se utiliza un enlace, en una modalidad, es ADH (dihidrazida de ácido adípico). Los conjugados obtenibles por tales métodos son los conjugados preferidos para el uso de acuerdo a la invención por ejemplo los conjugados que comprenden un portador de toxoide de difteria y/o toxoide de tétanos (y opcionalmente un enlazante de ácido adípico). Los conjugados se preparan preferiblemente por separado y después se mezclan. Después de mezclarse, la concentración de los conjugados mezclados se puede ajustar por ejemplo con solución salina estéril amortiguada con fosfato libre de pirógenos. Cada conjugado, antes de mezclarse, contiene preferiblemente no más 15 µg de portador.

***Componentes antigénicos adicionales de las composiciones usadas de acuerdo a la invención***

Además de los conjugados neumocócicos, las composiciones usadas de acuerdo a la invención pueden incluir opcionalmente 1, 2 ó 3 de los siguientes antígenos adicionales:

1. Un sacárido capsular conjugado de *N. meningitidis*; [referencias 69-71; ver arriba].

En una modalidad las composiciones/medicamentos de la invención no comprenden ningún conjugado de sacárido meningocócico. Preferiblemente un toxoide de tétanos presente como un portador.

2. Un sacárido capsular conjugado de *H. influenzae* [por ejemplo el capítulo 14 de la referencia 32].

La proteína portadora para el conjugado puede ser CRM197, Dt, un toxoide de tétanos o un complejo de membrana externa de *N. meningitidis*. La porción de sacárido del conjugado puede ser un polisacárido (por ejemplo fosfato de poliribosilribitol integral (PRP)), pero es preferido despolimerizar los polisacáridos capsulares para formar los oligosacáridos (por ejemplo MW de 1 a 5 kDa). Un conjugado de Hib preferido comprende un oligosacárido unido covalentemente a CRM197 o toxoide de tétanos vía un enlazante de ácido adípico [73,74]. La administración del antígeno de Hib preferiblemente da lugar a una concentración de anticuerpo anti-PRP de  $>0.15 \mu\text{g/ml}$ , y más preferiblemente de  $>1 \mu\text{g/ml}$ . Donde una composición incluye un antígeno de sacárido de Hib, también preferiblemente no incluye un adyuvante de hidróxido de aluminio. Si la composición incluye un adyuvante de aluminio de fosfato entonces el antígeno de Hib se puede absorber con el adyuvante [75] o puede no ser absorbido [27]. La prevención de la adsorción puede ser alcanzada seleccionando el pH correcto durante la mezcla del antígeno/adyuvante, un adyuvante con un punto de carga de cero apropiado, y un orden apropiado de mezcla para varios y diferentes antígenos en una composición [76].

3. Un antígeno de proteína del serogrupo B de *Neisseria meningitidis* [por ejemplo la referencia 77].

La composición puede comprender uno o más de estos antígenos adicionales. Éstos pueden estar en forma de proteínas

de membrana externa aisladas, o en forma de una preparación de antígeno de subunidad. Tales antígenos pueden o no ser absorbidos por una sal de aluminio.

Si los conjugados neumocócicos se administran en una serie  
5 de dosis entonces ninguna, alguna o todas las dosis pueden incluir estos antígenos adicionales.

Las composiciones que contienen los conjugados neumocócicos en una modalidad no incluyen los conjugados de sacárido capsular meningocócico.

10 En una modalidad no incluyen los antígenos de tosferina. En una modalidad no incluyen el antígeno superficial del virus de hepatitis B. En una modalidad no incluyen el virus de polio. Una composición contiene preferiblemente no más de 50 µg de toxoide de difteria/CRM197 por conjugado neumocócico, y  
15 preferiblemente no más de 50 µg de toxoide de difteria/CRM197 para todos los conjugados neumocócicos combinados. Una composición contiene preferiblemente no más de 50 µg de toxoide de tétanos por conjugado neumocócico, y preferiblemente no más de 50 µg de toxoide de tétanos para todos los conjugados  
20 neumocócicos combinados.

### ***Tercer aspecto de la invención***

En un tercer aspecto de la invención, los inventores han ideado maneras de administrar varias vacunas que utilizan el toxoide de tétanos y/o DT (y/o CRM197). La descripción escrita  
25 de los primeros y segundos aspectos de la invención anteriores y

de las reivindicaciones posteriores también es relevante y se incorpora por referencia a este tercer aspecto de la invención.

Adicionalmente se proporciona un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, *Bordetetta pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae* y *Streptococcus pneumoniae*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano las siguientes vacunas con el siguiente esquema de administración:

|       |          |          |          |          |
|-------|----------|----------|----------|----------|
|       | Visita 1 | Visita 2 | Visita 3 | Visita 4 |
| DTP   | X        |          | X        |          |
| Strep |          | X        |          | X        |
| MenC  |          | X        |          | X        |

en donde la visita al médico practicante toda ocurre en los primeros 8 meses de vida, en donde hay por lo menos 2 semanas entre cada visita consecutiva.

en donde DTP comprende DT, TT, y los antígenos de tosferina célula integral (Pw) o sin células (Pa),

en donde Strep es una vacuna de conjugado de sacárido capsular neumocócico polivalente que comprende por lo menos 7, 10, 11, 13 ó 14 serotipos conjugados,

en donde MenC comprende un sacárido capsular conjugado del serogrupo C de *N. meningitidis*,

en donde por lo menos un sacárido conjugado en cada una de las vacunas de Strep y MenC se conjuga a DT o CRM197, o

por lo menos un sacárido conjugado en cada una de las vacunas de Strep y MenC se conjuga a TT.

En un aspecto adicional se proporciona un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, *Bordetetta pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae* y *Streptococcus pneumoniae*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano las siguientes vacunas con el siguiente esquema de administración:

|       |          |          |          |                    |
|-------|----------|----------|----------|--------------------|
|       | Visita 1 | Visita 2 | Visita 3 | Visita 4           |
| DTP   | X        | X        | X        |                    |
| Strep | X        |          | X        |                    |
| MenC  |          | X        |          | Opcionalmente<br>X |

en donde la visita al médico practicante toda ocurre en los primeros 8 meses de vida, en donde hay por lo menos 2 semanas entre cada visita consecutiva.

en donde DTP comprende DT, TT, y los antígenos de tosferina célula integral (Pw) o sin células (Pa),

en donde Strep es una vacuna de conjugado de sacárido capsular neumocócico polivalente que comprende por lo menos 7, 10, 11, 13 ó 14 serotipos conjugados,

en donde MenC comprende un sacárido capsular conjugado del serogrupo C de *N. meningitidis*,

en donde por lo menos un sacárido conjugado en cada una

de las vacunas de Strep y MenC se conjuga a DT o CRM197, o por lo menos un sacárido conjugado en cada una de las vacunas de Strep y MenC se conjuga a TT.

En una modalidad adicional se proporciona un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, *Bordetetta pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae* y *Streptococcus pneumoniae*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano las siguientes vacunas con el siguiente esquema de administración:

|       | Visita1 | Visita 2 | Visita 3 |
|-------|---------|----------|----------|
| DTP   | X       | X        | X        |
| Strep | X       | X        |          |
| MenC  |         | X        | X        |

en donde la visita al médico practicante toda ocurre en los primeros 8 meses de vida,

en donde hay por lo menos 2 semanas entre cada visita consecutiva.

en donde DTP comprende DT, TT, y los antígenos de tosferina célula integral (Pw) o sin células (Pa),

en donde Strep es una vacuna de conjugado de sacárido capsular neumocócico polivalente que comprende por lo menos 7, 10, 11, 13 ó 14 serotipos conjugados,

en donde MenC comprende un sacárido capsular conjugado del serogrupo C de *N. meningitidis*,

en donde por lo menos un sacárido conjugado en cada una

76

de las vacunas de Strep y MenC se conjuga a DT o CRM197, o por lo menos un sacárido conjugado en cada una de las vacunas de Strep y MenC se conjuga a TT.

***Consideraciones generales de los aspectos de la invención***

5 ***Composición de vacuna***

La composición usada de acuerdo a la invención incluirá comúnmente un portador farmacéuticamente aceptable. Tales portadores incluyen cualquier portador que por sí mismo no induce la producción de anticuerpos; que no dañe al individuo que  
10 recibe la composición. Los portadores convenientes son macromoléculas comúnmente grandes metabolizadas lentamente tal como proteínas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácido, sucrosa, trehalosa, lactosa, y aditivos de lípido (tal  
15 como gotas o liposomas de aceite). Tales portadores son bien conocidos por los expertos en la técnica.

Las vacunas también pueden contener diluyentes, tal como agua, solución salina, glicerol, etc. Además, pueden estar presentes las sustancias auxiliares, tal como agentes  
20 humectantes o emulsificantes, sustancias de amortiguamiento de pH, y similares. La solución salina fisiológica estéril amortiguada con fosfato libre de pirógenos es un portador común. Una discusión minuciosa de los portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables está disponible en la referencia 78.

25 Las composiciones usadas de acuerdo a la invención pueden

incluir un antimicrobiano, particularmente si están empaquetadas en un formato de dosis múltiples.

Las composiciones usadas de acuerdo a la invención pueden comprender un por ejemplo Tween (polisorbato), por ejemplo Tween 80. Los detergentes están generalmente presentes a niveles bajos por ejemplo  $<0.01\%$ .

Las composiciones usadas de acuerdo a la invención pueden incluir sales de sodio (por ejemplo cloruro de sodio y/o fosfato de sodio). Éstas se pueden utilizar para lograr tonicidad. Una concentración de  $10 \pm 2\text{mg/ml}$  de NaCl es común por ejemplo de aproximadamente  $8.8\text{ mg/ml}$ . Una concentración de fosfato de sodio de  $1.2\text{mg/ml}$  es común.

Las composiciones usadas de acuerdo a la invención incluirán generalmente un amortiguador por ejemplo un amortiguador de fosfato.

Las composiciones usadas de acuerdo a la invención pueden comprender un alcohol de azúcar (por ejemplo manitol) o un disacárido (por ejemplo sucrosa o trehalosa) por ejemplo a aproximadamente  $15\text{-}30\text{ mg/ml}$  (por ejemplo  $25\text{ mg/ml}$ ), particularmente si se van liofilizar o si incluyen material que se ha reconstituido a partir de material liofilizado. Ciertas composiciones, sin embargo, pueden no liofilizarse, es decir los conjugados meningocócicos o neumocócicos pueden estar en forma acuosa, de la etapa de empaquetado a la etapa de administración. Las composiciones serán administradas

generalmente de manera directa a un paciente. El suministro directo se puede lograr mediante la inyección parenteral (por ejemplo subcutánea, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, o al espacio intersticial de un tejido), o por administración rectal, oral, vaginal, tópica, transdérmica, intranasal, ocular, aural, pulmonar o otra vía la mucosa. Se prefiere la administración intramuscular (por ejemplo al muslo o brazo superior). La inyección puede ser vía una aguja (por ejemplo una aguja hipodérmica), pero la inyección sin aguja se puede utilizar alternativamente. Una dosis intramuscular común es de 0.5 ml.

Los conjugados meningocócicos o neumocócicos de serogrupos/serotipos múltiples se administran mezclados dentro de una sola composición. La composición se puede administrar como una dosis simple, o se puede administrar más de una vez en un régimen de varias dosis. Las dosis múltiples se pueden utilizar en un régimen primario de inmunización y/o en un régimen de inmunización de refuerzo. Un régimen primario de dosis puede ser seguido por un régimen de dosis de refuerzo de conjugados meningocócicos o neumocócicos. La sincronización conveniente entre las dosis de cebado (por ejemplo entre 4-16 semanas), y entre el cebado y refuerzo, se puede determinar de manera rutinaria. Los conjugados se pueden administrar convenientemente al mismo tiempo que otras vacunas por ejemplo al mismo tiempo que una vacuna de D-T-P, o al mismo tiempo que una vacuna de conjugado neumocócico o meningocócico, o al

mismo tiempo que una vacuna de la influenza, o al mismo tiempo que una vacuna de MMR o MMRV. Estas vacunas; se administraran generalmente por separado pero durante la misma visita al doctor.

5 Las infecciones bacterianas pueden afectar varias áreas del cuerpo y así las composiciones se pueden preparar en varias formas. Por ejemplo, las composiciones se pueden preparar como soluciones o suspensiones inyectables líquidas. También se pueden preparar Las formas sólidas convenientes para la  
10 solución, o suspensión en vehículos líquidos antes de la inyección (por ejemplo una composición liofilizada). La composición se puede preparar para la administración tópica por ejemplo como un ungüento, crema o polvo. La composición se prepara para la administración oral por ejemplo como una tableta  
15 o cápsula, o como jarabe (opcionalmente saborizado). La composición se puede preparar para la administración pulmonar por ejemplo como inhalador, usando un polvo fino o un aerosol. La composición se puede preparar como un supositorio o pesario. La composición se puede preparar para la administración nasal,  
20 aural u ocular por ejemplo como aerosol, gotas, gel o polvo [por ejemplo las referencias 79 y 80]. Generalmente sin embargo, los conjugados meningocócicos o neumocócicos se formulan para la inyección intramuscular.

Las composiciones usadas de acuerdo a la invención pueden  
25 o no incluir un adyuvante de vacuna. Los adyuvantes que se

pueden utilizar en las composiciones de la invención incluyen, pero no se limitan a:

**A. Composiciones que contienen minerales**

Las composiciones que contienen minerales convenientes para el uso como adyuvantes en la invención que incluyen sales minerales, tal como sales de aluminio y sales de calcio. La invención incluye las sales minerales tal como hidróxidos (por ejemplo oxihidróxidos), fosfatos, sulfatos, etc. [por ejemplo ver los capítulos 8 y 9 de la referencia 81], o mezclas de diferentes composiciones minerales, con los compuestos que toman cualquier forma conveniente (por ejemplo gel, cristalina, amorfa, etc.), y es preferida la adsorción. Las composiciones que contienen minerales también se pueden formular como una partícula de sal de metal [82].

Los fosfatos de aluminio se pueden utilizar en las composiciones de la invención, y un adyuvante común es hidroxifosfato de aluminio amorfo con una relación molar de  $\text{PO}_4/\text{Al}$  entre 0.84 y 0.92, incluido a aproximadamente 0.6 mg  $\text{Al}^{3+}/\text{ml}$ .

La adsorción con una dosis baja de fosfato de aluminio se puede utilizar por ejemplo entre 50 y 100  $\mu\text{g}$   $\text{Al}^{3+}$  por conjugado por dosis. Donde una composición incluye los conjugados de especies bacterianas múltiples, entonces no todos los conjugados se necesitan absorber.

**B. Composiciones de emulsión de aceite**

Las composiciones de emulsión de aceite convenientes para el uso como adyuvantes en la invención que incluyen emulsiones de escualeno-agua, tal como MF59 [capítulo 10 de la referencia. 81, ver también la referencia 83] (5% escualeno, 0.5% Tween 80, y 0.5% Span 85, formulados en partículas submicrométricas usando un microfluidificador). El adyuvante de Freund completo y el adyuvante de Freund incompleto también se pueden utilizar.

**C. Formulaciones de saponina [capítulo 22 de la referencia 81]**

Las formulaciones de saponina también se pueden utilizar como adyuvantes en la invención. Las saponinas son un grupo heterólogo de glucósidos de esteroles y glucósidos de triterpenoide que se encuentran en la corteza, hojas, vástagos, raíces e incluso flores de una amplia gama de especies de plantas. La saponina de la corteza del árbol Quillaia Saponaria Molina se ha estudiado extensamente como adyuvante. La saponina también se puede obtener comercialmente de Smilax Ornata (sarsapilla), Gypsophilla paniculata (velo de novia), y Saponaria de cianalis (jabón; raíz). Las formulaciones adyuvantes de saponina incluyen formulaciones purificadas, tal como QS21, así como formulaciones de lípido, tal como ISCOMs. QS21 se comercializa como Stimulon™.

Las composiciones de saponina se han purificado usando CLAR y RP-CLAR. Las fracciones purificadas específicas que usan estas técnicas se han identificado, incluyendo QS7, QS17,

QS18, QS21, QH-A1 QH-B y QH-C. Preferiblemente, la saponina es QS21. Un método de producción de QS21 se describe en la referencia 84.

Las formulaciones de saponina también pueden comprender un esterol, tal como colesterol [85]. Las combinaciones de saponinas y colesterol se pueden utilizar para formar las partículas únicas llamadas complejos inmunoestimulantes (ISCOMs) [capítulo 23 de la referencia 81]. Los ISCOMs comúnmente también incluyen un fosfolípido tal como fosfatidiletanolamina o fosfatidilcolina. Cualquier saponina conocida se puede utilizar en ISCOMs. Preferiblemente, un ISCOM incluye uno o más de QuilA, QHA y QHC. Los ISCOMs se describen adicionalmente en las referencias 85-87. Opcionalmente, los ISCOMs se pueden despojar del detergente adicional [88].

Una revisión del desarrollo de adyuvantes basados en saponina se puede encontrar en las referencias 89 y 90.

#### ***D. Virosomas y partículas de tipo virus***

Los virosomas y partículas de tipo virus también se pueden utilizar como adyuvantes en la invención. Estas estructuras contienen generalmente una o más proteínas de un virus opcionalmente combinado o formulado con un fosfolípido. Son generalmente no patogénicos, no se replican y generalmente no contienen ningún genoma viral nativo. Las proteínas virales se pueden producir o aislar de manera recombinante de virus

íntegros. Estas proteínas virales convenientes para el uso en virosomas o VLPs incluyen las proteínas derivadas del virus de la influenza (tal como HA o NA), virus de la hepatitis B (tal como proteínas base o de cápsida), virus de la hepatitis E, virus de sarampión, virus de Sindbis, Rotavirus, virus de la fiebre aftosa, Retrovirus, virus de Norwalk, virus del papiloma humano, VIH, fagos de ARN, fagos de QJ3 (tal como proteínas de recubrimiento), fago de GA I, fago de fr, fago de AP205, y Ty (tal como proteína pi de Ty de retrotransposón). Las VLPs se discuten adicionalmente en las referencias 91-96. Los virosomas se discute más detalladamente en, por ejemplo, la referencia 97.

***E. Derivados bacterianos o microbianos***

Los adyuvantes convenientes para el uso en la invención incluyen derivados bacterianos o microbianos tal como derivados no tóxicos de lipopolisacárido enterobacteriano, derivados de lípido A, oligonucleótidos inmunoestimulantes y toxinas de ADP-ribosilación y derivados desintoxicados de los mismos.

Los derivados no tóxicos de LPS incluyen el lípido A de monofosforilo (MPL) y MPL 3-O-desacilado (3dMPL). 3dMPL es una mezcla del lípido A de monofosforilo 3-O-acilado con 4, 5 ó 6 cadenas aciladas. Una forma preferida de "partícula pequeña" de lípido A de monofosforilo 3-O-acilado se describe en la referencia 98. Tales "partículas pequeñas" de 3dMPL son lo suficientemente pequeñas para filtrarse de manera estéril a través de membranas de 0.22  $\mu\text{m}$  [98].

Otros derivados no tóxicos de LPS incluyen imitadores de lípido A de monofosforilo, tal como derivados de fosfato de glucosaminida de aminoalquilo por ejemplo RC-529 [99, 100].

Los derivados del lípido A incluyen los derivados del lípido A de *E. coli* por ejemplo OM174. OM-174 se describe por ejemplo en las referencias 101 y 102.

Los oligonucleótidos inmunoestimulantes convenientes para el uso como adyuvantes en la invención incluyen un nucleótido; secuencias que contienen un motivo de CpG (una secuencia de dinucleótido que contiene una citosina sin metilar ligada por un enlace fosfato a una guanosina). Los ARNs con doble filamento y los oligonucleótidos que contienen las secuencias palindrómicas o poli(dG) también han mostrado ser inmunoestimulantes.

Los CpGs incluyen las modificaciones/análogos de nucleótido tal como modificaciones de fosforotioato y pueden tener un filamento doble o un filamento sencillo. Las referencias 103, 104 y 105 describen las sustituciones analógicas posibles por ejemplo el remplazo de guanosina con 2'-deoxi-7-deazaguanosina. El efecto adyuvante de los oligonucleótidos de CpG se discute adicionalmente en las referencias 106-111.

La secuencia de CpG se puede dirigir a TLR9, tal como el motivo GTCGTT o TTCGTT [112]. La secuencia de CpG puede ser específica para inducir una inmunorespuesta de Th1, tal como CpG-A ODN, o puede ser más específica para inducir una respuesta de células B, tal CpG-B ODN. CpG-A y CpG-B ODNs se

discuten en las referencias 113-115. Preferiblemente, CpG es un CpG-A ODN.

Preferiblemente, se construye el oligonucleótido de CpG a modo que el extremo 5' sea accesible para el reconocimiento de receptor. Opcionalmente, dos secuencias de oligonucleótido de CpG se pueden unir a sus extremos 3' para formar "inmunómeros". Ver, por ejemplo, las referencias 112 y 116-118.

Las toxinas bacterianas de ADP-ribosilación y los derivados desintoxicados de las mismas se pueden utilizar como adyuvantes en la invención. Preferiblemente, la proteína se deriva de *E. coli* (enterotoxina de *E. coli* inestable al "LT"), cólera ("CT"), o tosferina ("PT"). El uso de toxinas desintoxicadas de ADP-ribosilación como adyuvantes de mucosa se describe en la referencia 119 y como adyuvantes parenterales en la referencia 120. La toxina o toxoide está preferiblemente en forma de holotoxina, que comprende las subunidades A y B. Preferiblemente, la subunidad A contiene una mutación de desintoxicación; la preferiblemente la subunidad B no está mutada. Preferiblemente, el adyuvante es un mutante desintoxicado de LT tal como LT-K63, LT-R72, y LT-G192. El uso de las toxinas de ADP-ribosilación y sus derivados desintoxicados de I, particularmente LT-K63 y LT-R72, como adyuvantes se puede encontrar en las referencias 121-128. La referencia numérica para las sustituciones de aminoácido se basa preferiblemente en las alineaciones de las subunidades A y B de

86

las toxinas de ADP-ribosilación establecidas en la referencia 129, incorporadas específicamente en la presente por referencia en su totalidad.

**F. Inmunomoduladores humanos**

5 Los inmunomoduladores humanos convenientes para el uso como adyuvantes en la invención incluyen citosinas, tal como interleucinas (por ejemplo IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12 [130], etc.) [131], interferones (por ejemplo interferon- $\gamma$ ), factor de estimulación de colonia de macrófago, y factor de necrosis  
10 tumoral.

**G. Bioadhesivos y Mucoadhesivos**

Los bioadhesivos y mucoadhesivos también se pueden utilizar como adyuvantes en la invención. Los bioadhesivos convenientes incluyen las microesferas esterificadas de ácido  
15 hialurónico [132] o mucoadhesivos tal como los derivados reticulados de alcohol poli(ácido acrílico), polivinilo, pirrolidona de polivinilo, polisacáridos y carboximetilcelulosa. El quitosán y sus derivados también se pueden utilizar como adyuvantes en la invención [133].

20 **H. Micropartículas**

Las micropartículas también se pueden utilizar como adyuvantes en la invención. Son preferidas las micropartículas (es decir una partícula de 100 nm a 150 nm de diámetro, preferiblemente de 200nm a 30  $\mu$ m de diámetro, y más  
25 preferiblemente 500 nm a 10  $\mu$ m de diámetro) formadas de

materiales que son biodegradables y no tóxicos (por ejemplo un poli(ácido hidroxí  $\alpha$ ), ácido polihidroxibutírico, poliortoéster, polianhídrido, policaprolactona, etc.), poli(lactida-co-glicolida), opcionalmente tratadas para tener una superficie cargada  
5 negativamente (por ejemplo con SDS) o una superficie cargada positivamente (por ejemplo con un detergente catiónico, tal como CTAB)

***I. Liposomas (capítulos 13 y 14 de la referencia 81)***

10 Los ejemplos de formulaciones de liposoma convenientes para el uso como adyuvantes se describen en las referencias 134-136.

***J. Formulaciones de éter de polioxietileno y éster de polioxietileno***

15 Los adyuvantes convenientes para el uso en la invención incluyen los éteres de polioxietileno y ésteres de polioxietileno [137]. Tales formulaciones además incluyen los tensioactivos de éster de sorbitan de polioxietileno en combinación con un octoxinol [138] así como éteres de alquilo de polioxietileno o  
20 tensioactivos de éster en combinación con por lo menos un tensioactivo no iónico adicional tal como un octoxinol [139]. Los éteres de polioxietileno preferidos se selecciona del siguiente grupo: éter de polioxietilen-9-laurilo (laureth 9), éter de polioxietilen-9-steoril, éter de polioxietilene-8-esteorilo, éter de  
25 polioxietilen-4-laurilo, éter de polioxietilen-35-laurilo, y éter de

polioxietilen-23-laurilo.

**K. Muramilpéptidos**

Los ejemplos de muramilpéptidos convenientes para el uso como adyuvantes en la invención incluyen N-acetil muramil-L-treonil-D-isoglutamine (thr-MDP), N-acetil-normuramil-L-alanil-D-  
5 isoglutamina (nor-MDP), y N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutaminil-L-alanina-2-(1'-2'-dipalmitoil-sn-glicero-3-hidroxfosforiloxi)-etilamnina MTP-PE)

**L. Polifosfaceno (PCPP)**

10 Las formulaciones de polifosfaceno PCPP se describen, por ejemplo, en las referencias 140 y 141.

**M. Compuestos de imidazoquinolona**

Los ejemplos de imidazoquinolina convenientes para uso como adyuvantes en la invención incluyen Imiquamod y sus  
15 homólogos (por ejemplo "Resiquimod 3M"), descritos adicionalmente en las referencias 142 y 143.

**N. Compuestos de tiosemicarbazona**

Los ejemplos de compuestos de tiosemicarbazona, así como los métodos de formulación, fabricación, y análisis de los  
20 compuestos, todos convenientes para el uso como adyuvantes en la invención, incluyen los descritos en la referencia 144. Las tiosemicarbazonas son particularmente efectivas en el estímulo de las células mononucleares sanguíneas periféricas humanas para la producción de citosinas, tal como TNF- $\alpha$ .

25 **O. Compuestos de triptantrina**

Los ejemplos de compuestos de triptantrina, así como métodos de formulación, fabricación, y análisis de los compuestos, todos convenientes para el uso como adyuvantes en la invención, incluyen los descritos en la referencia 145. Los compuestos de triptantrina son particularmente efectivos en el estímulo de las células mononucleares sanguíneas periféricas humanas para la producción de citosinas, tal como TNF- $\alpha$ .

La invención también puede comprender las combinaciones de los aspectos de uno o más de los adyuvantes identificados arriba. Por ejemplo, las siguientes composiciones adyuvantes se pueden utilizar en la invención: (1) una saponina y una emulsión aceite/agua [146]; (2) una saponina (por ejemplo QS21) + derivado de LPS no tóxico (por ejemplo 3dMPL) [147]; (3) una saponina (por ejemplo QS21) + un derivado de LPS no tóxico (por ejemplo 3dMPL) + un colesterol; (4) una saponina (por ejemplo QS21) + 3dMPL + IL-12 (opcionalmente + un esteroide) [148]; (5) combinaciones de 3dMPL con, por ejemplo, QS21 y/o emulsiones aceite/agua [149]; (6) SAF, que contiene 10% de escualano, 0.4% Tween 80™, 5% polímero de bloqueo plurónico L121, y thr-MDP, microfluidificado en una emulsión submicrométrica o sometido a vórtice para generar una emulsión de tamaño de partícula más grande. (7) sistema adyuvante Ribi™ (RAS), (Ribi Immunochem) que contiene 2% escualeno, 0.2% Tween 80, y uno o más componentes bacterianos de la pared celular del grupo que consiste de lípido A de monofosforilo (MPL), dimicolato de

trehalosa (TDM), y estructura de la pared celular (CWS), preferiblemente MPL + CWS (Detox™); (8) una o más sales minerales (tal como sal de aluminio) + un derivado de LPS no tóxico (tal como 3dMPL); y (9) una o más sales minerales (tal como sal de aluminio) + un oligonucleótido inmunoestimulante (tal como una secuencia de nucleótido que incluye un motivo de CpG).

Otras sustancias que actúan como agentes inmunoestimulante se describen en el capítulo 7 de la referencia 81.

El uso de un adyuvante de hidróxido de aluminio o de fosfato aluminio es preferido, y los conjugados se absorben generalmente con estas sales [tal como los ejemplos 7 y 8 de las referencia 9; ejemplo J de la referencia 10]. La mezcla con sales de aluminio sin adsorción también es posible [27, 76]. El fosfato de calcio es otro adyuvante preferido. Los conjugados se pueden mezclar con (y opcionalmente absorber) los adyuvantes por separado y después los conjugados se pueden mezclar juntos, o los conjugados se pueden mezclar juntos y después mezclarse con el adyuvante.

El pH de las composiciones usadas de acuerdo a la invención está preferiblemente entre 6 y 8, más preferiblemente a aproximadamente 7. El pH estable se puede mantener mediante el uso de un amortiguador. Donde una composición comprende una sal de hidróxido de aluminio, se prefiere utilizar un amortiguador

de histidina [150]. La composición puede ser estéril y/o libre de pirógenos. Las composiciones pueden ser isotónicas con respecto a humanos.

Las composiciones pueden incluir un conservador (por ejemplo tiomersal, fenoxietanol 2), o pueden estar libres de conservador. Las composiciones preferidas de la invención no incluyen ningún material de mercurio por ejemplo están libres de tiomersal.

Para prevenir la interferencia entre los antígenos, particularmente antígenos de conjugado, es posible incluir un polímero polianiónico, tal como ácido poli-L-glutámico [151].

Las composiciones se pueden presentar en recipientes, o pueden presentarse en jeringas llenadas listas. Las jeringas se pueden suministrar con o sin agujas. Una jeringa incluirá una dosis simple de composición, mientras que un recipiente puede incluir una dosis simple o dosis múltiples. Las composiciones inyectables serán generalmente soluciones o suspensiones líquidas. Alternativamente, se pueden presentar en forma sólida (por ejemplo liofilizada) para la solución o suspensión en vehículos líquidos antes de la inyección.

Las composiciones se pueden empaquetar en forma de dosis unitaria o en forma de dosis múltiples. Para las formas de dosis múltiples, los recipientes son preferidos sobre las jeringas pre-llenadas. Los volúmenes de dosificación efectivos pueden ser establecidos de manera rutinaria, pero una dosis humana común

de la composición para la inyección tiene un volumen de 0.5 ml.

Donde una composición que será preparada extemporáneamente antes de uso (por ejemplo donde un componente se presenta en forma liofilizada) y se presenta como  
5 kit, el kit puede comprender dos recipientes, o puede comprender una jeringa pre-llenada y un recipiente, con el contenido de la jeringa que es utilizado para reactivar el contenido del recipiente antes de la inyección. Para las composiciones que incluyen un sacárido capsular del serogrupo A, entonces el sacárido del  
10 serogrupo A se puede liofilizar, mientras que los sacáridos de otros serogrupos pueden estar presentes en forma líquida.

Las composiciones comprenderán una cantidad inmunológicamente efectiva de los conjugados meningocócicos, así como cualquier otro componente, según lo necesitado. Por  
15 'cantidad inmunológicamente efectiva', se entiende que la administración de la cantidad a un individuo, en una dosis simple o como parte de una serie, produce una inmunorespuesta protectora anti-meningocócica o anti-neumocócica en los pacientes. Esta cantidad dependiendo de la salud y condición  
20 física del individuo que se tratará, edad, grupo taxonómico del individuo que se tratara (por ejemplo primate no humano, primate, etc.), de la capacidad del sistema inmunológico del individuo para sintetizar los anticuerpos, grado de protección deseado, formulación de vacuna, valoración de la situación médica del  
25 doctor tratante, y de otros factores relevantes. Se espera que la

cantidad disminuya en un intervalo relativamente amplio que se puede determinar a través de análisis rutinarios, y una cantidad común de cada antígeno meningocócico por dosis está entre 1 µg y 20 µg por serogrupo/serotipos (medida en términos de sacárido) por ejemplo entre 2 y 10 µg por serogrupo/serotipos. Una dosis de aproximadamente 4 µg por serogrupo/serotipos se puede utilizar (es decir un total de 16 µg en una mezcla tetravalente de MenACWY).

La cantidad total de proteína portadora en una composición preferiblemente no excede 100 µg/dosis por ejemplo es ≤90 µg/dosis, ≤80 µg/dosis, ≤70 µg/dosis, ≤60 µg/dosis, ≤50 µg/dosis, etc. La cantidad total de proteína portadora en una composición será generalmente de por lo menos 10 µg/dosis.

Generalmente, el término "que comprende" abarque "que incluye" así como "que consiste" por ejemplo una composición "que comprende" X puede consistir exclusivamente de X o puede incluir una porción adicional por ejemplo X + Y. El término "aproximadamente" en lo referente a un valor numérico x significa, por ejemplo,  $x \pm 10\%$ .

La palabra "sustancialmente" no excluye "totalmente" por ejemplo una composición que está "sustancialmente libre" de Y pueda estar completamente libre de Y. En caso de ser necesario, la palabra "sustancialmente" se pueda omitir de la definición de la invención.

El término "sacárido" a través de esta especificación puede

indicar el polisacárido u oligosacárido e incluye ambos. Los polisacáridos se aíslan de bacterias y se dimensionan a un cierto grado por métodos conocidos (ver por ejemplo EP497524 y EP497525) y preferiblemente por microfluidificación. Los polisacáridos se pueden dimensionar para reducir la viscosidad en muestras de polisacárido y/o para mejorar la filtrabilidad para productos conjugados. Los oligosacáridos tienen un número bajo de unidades de repetición (comúnmente 5-30 unidades de repetición) y son comúnmente polisacáridos hidrolizados.

#### 10 **Modos de Llevar a Cabo la Invención**

##### ***Estudio No. 217744/085 (DTPa-Hep B-IPV-085)***

**Título:** Un estudio clínico de fase III, etiquetado abierto, multicentro aleatorio de seguridad y inmunogenicidad de una serie primaria de vacunas candidatas de DTaP-HepB-IPV de GlaxoSmithKline Biologicals (GSK Biologicals') co-administradas con HibTITER® y Prevnar® a niños sanos de 2, 4, y 6 meses de edad en comparación a la administración separada de Infanrix® + Engerix-B® + IPOL® + HibTITER + Prevnar y a la vacuna candidata de DTaP-HepB-IPV de GSK Biologicals co-administrada con HibTITER.

**Análisis razonado:** El presente estudio primario de vacunación evaluó la seguridad e inmunogenicidad de la vacuna combinada de DTaP-HepB-IPV de GSK Biologicals (DTaP-HBV-IPV) cuando se co-administra con la vacuna de conjugado de *H. influenzae* tipo b (Hib) y con la vacuna de conjugado de 7

valencias neumocócico (PnC) en comparación a la administración separada de la vacuna de DTaP (DTaP), vacuna recombinante de hepatitis B (HBV), vacuna Inactivada del virus de polio (IPV) y Hib y PnC y a DTaP-HBV-IPV cuando se co-administra con Hib con PnC administrado dos semanas después de cada una de las dosis de DTaP-HBV-IPV.

### **Fase III**

**Período de estudio:** 8 de febrero de 2002 al 4 de agosto de 2003.

**Diseño del estudio:** El estudio vacunación primario abierto multicentro con tres grupos paralelos. La salud de los infantes de 2 meses fue de edad fue seleccionada de manera aleatoria de uno de los tres grupos con una asignación equilibrada (1:1:1).

**Centros:** 12 centros en los Estados Unidos de Norteamérica

**Indicación:** Las vacunas de DTaP, HBV, IPV, Hib y PnC se indican para la inmunización activa de infantes en el primer año de vida contra la difteria, tétanos, tosferina, hepatitis B, poliomiелitis, *H. influenzae* tipo b, y enfermedades *Streptococcus pneumoniae* de los serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, y 23F.

**Tratamiento:** Los grupos de estudio fueron como siguen:

- Grupo de vacuna de combinación que recibe una dosis de cada uno de DTaP-HBV-IPV + Hib + PnC a los 2, 4, 6 meses de edad
- Grupo de vacuna separada que recibe una dosis de cada uno de DTaP + HBV + IPV + Hib + PnC a los 2, 4, 6 meses

de edad, HBV no se debe administrar a los 4 meses de edad a sujetos que recibieron una dosis de vacuna de hepatitis B antes de la inscripción a este estudio

- Grupo de vacuna escalonada que recibe una dosis de cada uno de DTaP-HBV-IPV + Hib a los 2, 4, 6 meses de edad (PnC administrado 2 semanas después de cada dosis de DTaP-HBV-IPV + Hib)

Todas las vacunas fueron administradas por inyección intramuscular profunda excepto IPV, que fue administrado por inyección subcutánea en el deltoide izquierdo. Las inyecciones de DTaP-HBV-IPV o DTaP se debieron administrar en el muslo anterolateral derecho superior, y las inyecciones de HBV se debieron administrar en el muslo anterolateral derecho inferior. Las inyecciones de PnC y Hib debieron administrar en el muslo anterolateral izquierdo superior e inferior, respectivamente.

**Objetivos:** El objetivo primario fue demostrar que la inmunogenicidad de la vacuna combinada de DTaP-HBV-IPV de GSK Biologicals co-administrada con Hib y PnC como un régimen primario de vacunación de tres dosis, no es inferior a la de DTaP, HBV, IPV, Hib y PnC administrados por separado con respecto a difteria, tétanos, tosferina, y virus de polio.

***Variables primarias del resultado/eficacia:***

Criterios para cumplir este objetivo (un mes después de la tercera dosis):

- Límite superior de 90% bilateral de CI en la relación de

concentración promedio geométrica (GMC) (grupo de vacuna separada con respecto al grupo de vacuna de combinación) por debajo de 1.5 para cada antígeno de tosferina

- límite superior de 95% bilateral de CI en la diferencia absoluta (grupo de vacuna separada menos el grupo de vacuna de combinación) para el índice de seroprotección por debajo del 10% para los antígenos de D y T:

- estado de seroprotección para las concentraciones de anticuerpo anti-D y anti-T de  $\geq 0.1$  IU/ml

- límite superior de 95% bilateral de CI en la diferencia absoluta (grupo de vacuna separada menos el grupo de vacuna de combinación) para el índice de seroprotección por debajo del 5% para los tres antígenos de poliomielitis:

- estado de seroprotección para los títulos del anticuerpo anti-virus de polio tipo 1, 2 y 3 de  $\geq 1:8$

***Variables secundarias del resultado/eficacia:***

- Inmunogenicidad un mes después de la tercera dosis de la serie primaria de vacunaciones

- respuesta de vacuna a PT, FHA y PRN, definida como la aparición de anticuerpos en sujetos que fueron inicialmente seronegativos (es decir, con concentraciones > valor límite)

- Estado de seropositividad para anti-PT, anti-PRN anti-FHA (definido como concentraciones de anticuerpo de > 5 EL.U/ml)

- Seroprotección a la hepatitis B (definida como

concentraciones de anticuerpo anti-HBs > 10 mIU/ml).

- Estado de seroprotección para anti-PRP (definido como concentraciones de anticuerpo de  $\geq 0.15 \mu\text{g/ml}$  y  $\geq 1.0 \mu\text{g/ml}$ ).

5        - Estado de seropositividad para las concentraciones de anticuerpo anti-neumocócico a los 7 serotipos de PnC (definido como concentraciones de anticuerpo de  $\geq 0.05 \mu\text{g/ml}$ ).

10       - Concentraciones de anticuerpo anti-difteria, anti-tétanos, anti-HBs y anti-PRP, y títulos de anticuerpo anti-virus de polio tipos 1, 2, y 3.

• **Seguridad**

- Incidencia de la fiebre de cualquier intensidad (temperatura rectal  $\geq 38.0^\circ\text{C}/\geq 100.4^\circ\text{F}$ ) que ocurre en un periodo de 4 días (día 0 - día 3) después de cada dosis de vacuna.

15       - Incidencia de fiebre de grado 2 o grado 3 ( $>38.5^\circ\text{C}/>101.3^\circ\text{F}$ ) que ocurre en un periodo de cuatro días después de cada dosis de vacuna.

20       - Incidencia de fiebre grado 3 ( $>39.5^\circ\text{C}/>103.1^\circ\text{F}$ ) que ocurre en un periodo de cuatro días después de cada dosis de vacuna.

- Incidencia de fiebre de  $>39.0^\circ\text{C}$  ( $>102.2^\circ\text{F}$ ) que ocurre en un periodo de cuatro días después de cada dosis de vacuna.

25       - La incidencia de otros síntomas generales solicitados (cualquier intensidad, grado 2 o grado 3 y grado 3) que ocurre en un periodo de cuatro días después de cada dosis de vacuna.

- Incidencia de los síntomas locales solicitados (cualquier intensidad, grado 2 o grado 3 y grado 3) que ocurre en un periodo de cuatro días después de cada dosis de vacuna.

- Incidencia de uso anti-pirético en un periodo de cuatro días después de cada dosis de vacuna.

- Incidencia de uso antibiótico en un periodo de cuatro días después de cada dosis de vacuna.

- Incidencia de acontecimientos adversos (AEs) no solicitados que ocurren a través de toda la fase activa del estudio (incluyendo el período de examen de 31 días después de la última dosis de DTaP/DTaP-HBV-IPV).

- Ocurrencia de SAEs a través de todo el estudio incluyendo el período de examen de seis meses (182 días) después de la última dosis de DTaP/DTaP-HBV-IPV.

• Período extendido de examen de seguridad de hasta seis meses después de la última dosis de la vacuna de estudio (cinco meses después del final de la fase activa).

**Métodos estadísticos:**

Los análisis fueron realizados en la cohorte vacunada total, cohorte de acuerdo-al-protocolo y la cohorte de examen extendido de seguridad (ESFU).

- La cohorte vacunada total incluye todos los sujetos que reciben por lo menos una dosis de vacuna y para quienes los datos para las mediciones del punto final estuvieron disponibles. En la cohorte vacunada total, los sujetos fueron analizados de

100

acuerdo a las vacunas que fueron administradas realmente.

- La cohorte de ATP para la inmunogenicidad incluye sujetos para quienes los resultados del análisis estuvieron disponibles para los anticuerpos contra por lo menos un antígeno de vacuna de estudio un mes después de la vacunación primaria de 3 dosis.

- La cohorte de ESFU incluye todos los sujetos para quienes los datos de examen estuvieron disponibles más allá del período de 31 días (Día 0 - día 30) después de la última dosis de vacuna (última dosis después del día 31 al último contacto del estudio), e incluye los sujetos que se aliviaron antes del contacto de examen de cinco meses al final del estudio (seis meses después de la última dosis pasada de vacuna del estudio).

***Análisis de inmunogenicidad:***

Los análisis de inmunogenicidad fueron basados en la cohorte de ATP.

Los índices de GMCs/GMT y seropositividad/seroprotección fueron calculados con su 95% de CI para cada grupo, en cada punto de tiempo del muestreo de sangre.

Fueron calculados los intervalos de confianza asintóticos estandarizados del 95% para la diferencia en los índices de respuesta de vacunas de tosferina y en índices de seroprotección de D, T, virus de polio tipo 1, 2 y 3 (grupo de vacuna separado menos el grupo de vacuna de combinación) un mes después de la tercera dosis. Para cada antígeno de tosferina un mes después de

la tercera dosis de vacuna, el 90% de CIs de las relaciones de GMC/GMT (grupo de vacuna separada dividido por el grupo de vacuna de combinación) se calculo usando un modelo ANCOVA en la transformación de logaritmo 10 de las concentraciones/títulos.

5 El modelo ANCOVA incluyó el grupo de vacuna mientras como el efecto fijado (tres grupos) y la concentración/título de pre-vacunación como el retroceso.

El objetivo primario fue alcanzado si los límites superiores del 90% CIs para las relaciones de GMC/GMT y del 95% asintótico de CIs para las diferencias en los índices de seroprotección para todos los puntos finales primarios, todos  
10 estuvieron por debajo de los límites clínicos que definen la no inferioridad.

#### ***Análisis de seguridad***

15 Para los síntomas solicitados, los análisis fueron realizados en la cohorte vacunada total. Para cada uno de los síntomas solicitados, el porcentaje de sujetos con el síntoma y su intervalo de confianza exacto de 95% (CI) fue presentado brevemente por el grupo de vacuna, por la dosis y a través de la dosis.

20 El porcentaje de los sujetos que usan los antibióticos y anti-piréticos dentro del periodo de post-vacunación de cuatro días fue presentado brevemente con 95% de CI.

El porcentaje de sujetos que reportan los síntomas no solicitados durante la fase activa (de la dosis 1 al día 30 después  
25 de la última dosis de), presentado brevemente por el grupo de

vacuna de acuerdo al término preferido WHO y reportado a la cohorte vacunada total.

El porcentaje de sujetos que reportaron síntomas no solicitados durante el período de examen de seguridad (que  
5 ocurre del día 31 después de la última dosis de vacuna al último contacto del estudio), fue presentado brevemente por el grupo de vacuna de acuerdo al término preferido WHO y se reportó a la cohorte de ESFU.

Los SAEs reportados durante todo el estudio incluyendo el  
10 período extendido de examen de seguridad (ESFU) también fueron descritos y reportados a la cohorte vacunada total.

**Población del estudio:** Niños y niñas sanos nacidos después de un periodo de gestación normal de 36-42 semanas, de  
15 6-12 semanas de edad al momento de la primera vacunación primaria, y libres de problemas de salud obvios según lo establecido por el historial médico y por el examen clínico antes de ingresar al estudio. Los sujetos no debieron haber sido vacunados previamente contra la difteria, tétanos, tosferina,  
20 poliomielitis, *Hemophilus influenzae* tipo b, y/o enfermedad de *Streptococcus pneumoniae*; más de una dosis previa de vacuna de hepatitis B por lo menos 30 días antes de la inscripción, o haber tenido un historial de estas enfermedades. Los padres/tutores de los sujetos proporcionaron un consentimiento  
25 informado escrito.

5

10

15

20

25

| Número de Sujetos (Cohorte<br>ITT Modificada)              | Grupo<br>Separado de<br>Vacuna | Escalonado<br>Grupo de<br>Vacuna | Combinación<br>Grupo de<br>Vacuna |
|------------------------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| Planeado, N                                                | 190                            | 190                              | 190                               |
| Seleccionado de manera<br>aleatoria, N                     | 188                            | 188                              | 199                               |
| Completado, n (%)                                          | 172 (91.5)                     | 177 (94.1)                       | 183 (92.0)                        |
| Eliminación del Número Total de<br>Sujetos, N (%)          | 16 (8.5)                       | 11(5.9)                          | 16 (8.0)                          |
| Separación debida a los<br>acontecimientos adversos, n (%) | 0 (0.0)                        | 0 (0.0)                          | 0 (0.0)                           |
| Eliminación debido a la carencia<br>de eficacia, n (%)     | No aplicable                   | No aplicable                     | No aplicable                      |
| Eliminación por otras razones, n<br>(%)                    | 16 (8.5)                       | 11 (5.9)                         | 16 (8.0)                          |
| Demografía                                                 |                                |                                  |                                   |
| Grupo                                                      |                                |                                  |                                   |
| Cohorte Total Vacunada, N                                  | 188                            | 188                              | 199                               |
| Niñas:Niñas                                                | 95:93                          | 97:91                            | 104:95                            |
| Edad promedio, semanas (SD)                                | 8.6 (1.24)                     | 8.8 (1.41)                       | 8.6 (1.22)                        |
| Población:caucásica, n (%)                                 | 157 83.5                       | 160 85.1                         | 167 83.9                          |

104

5

10

15

20

25

| <b>Resultados Primarios de la Eficacia:</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                          |     |            |                                |     |            |                                               |        |        |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----|------------|--------------------------------|-----|------------|-----------------------------------------------|--------|--------|
| Diferencias en los índices de respuesta entre el Grupo de Vacuna Separado y el Grupo de Vacuna de Combinación con su 95% CIs un mes después de la tercera vacunación de DTaP/DTaP-HB-IPV para anti-díptera, anti-tétanos y tres antígenos de poliomiелitis - cohorte de ATP                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                          |     |            |                                |     |            |                                               |        |        |
| Punto final                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Grupo de Vacuna Separado |     |            | Grupo de Vacuna de Combinación |     |            | Grupo de Vacuna Separado menos de Combinación |        |        |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | N                        | n   | Índice (%) | N                              | n   | Índice (%) | Dif. de índices (%)                           | 95% CI |        |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                          |     |            |                                |     |            |                                               | LL     | LIL    |
| anti-D ≥ 0.1 IU/ml                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 155                      | 153 | 98.7       | 168                            | 167 | 99.4       | -0.70                                         | -4.05  | 2.12*  |
| anti-T ≥ 0.1 IU/ml                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 155                      | 152 | 98.1       | 168                            | 168 | 100.0      | -1.94                                         | -5.54  | 0.32*  |
| anti-virus de polio 1 ≥ 1:8                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 153                      | 153 | 100.0      | 168                            | 168 | 100.0      | 0.00                                          | -2.45  | 2.24** |
| anti-virus de polio 2 ≥ 1:8                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 153                      | 153 | 100.0      | 168                            | 168 | 100.0      | 0.00                                          | -2.45  | 2.24** |
| anti-virus de polio 3 ≥ 1:8                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 153                      | 153 | 100.0      | 168                            | 168 | 100.0      | 0.00                                          | -2.45  | 2.24** |
| N = número de sujetos con resultados disponibles<br>n= número de sujetos con concentración/título con respecto al límite especificado o con una respuesta de vacuna % = n/N x 100<br>El 95% CI = 95% de intervalo de confianza asintótico estandarizado; LL = límite inferior; UL = límite superior<br>*cumple el criterio de no inferioridad: límite superior por debajo del límite clínico de 10% de diferencia de no inferioridad<br>** cumple el criterio de no inferioridad: límite superior por debajo del 5% de límite clínico de diferencia para la no inferioridad |                          |     |            |                                |     |            |                                               |        |        |

5

10

15

20

25

| <b>Resultados Primarios de Eficacia:</b>                                                                                                                                                                    |                          |                   |                             |                   |                                       |        |       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-------------------|-----------------------------|-------------------|---------------------------------------|--------|-------|
| Relaciones de GMCs/GMT ajustados entre el Grupo de Vacuna Separado y el Grupo de Vacuna de Combinación con su 90% CIs un mes después de la tercera vacunación para cada antígeno de tosferina - cohorte ATP |                          |                   |                             |                   |                                       |        |       |
| Punto final                                                                                                                                                                                                 | Grupo de Vacuna Separado |                   | Grupo de Vacuna Combinación |                   | Grupo de Vacuna Separado/ Combinación |        |       |
|                                                                                                                                                                                                             | N                        | GMC/ GMT Ajustado | N                           | GMC/ GMT Ajustado | Relación de GMC/GMT ajustado          | 90% CI |       |
|                                                                                                                                                                                                             |                          |                   |                             |                   |                                       | LL     | UL    |
| concentración anti-PT                                                                                                                                                                                       | 142                      | 28.6              | 155                         | 48.1              | 0.59                                  | 0.51   | 0.70* |
| concentración anti-FHA                                                                                                                                                                                      | 141                      | 97.6              | 154                         | 111.9             | 0.87                                  | 0.76   | 1.00* |
| concentración anti-PRN                                                                                                                                                                                      | 142                      | 80.6              | 156                         | 95.3              | 0.85                                  | 0.72   | 0.99* |
| N: número de sujetos con resultados pre- y post-vacunación disponibles                                                                                                                                      |                          |                   |                             |                   |                                       |        |       |
| 90% CI = 90% intervalo de confianza; LL = límite inferior; UL = límite superior                                                                                                                             |                          |                   |                             |                   |                                       |        |       |
| (modelo Ancova que incluyen 3 grupos de vacuna: ajuste para los                                                                                                                                             |                          |                   |                             |                   |                                       |        |       |
| concentraciones/títulos del anticuerpo de línea base)                                                                                                                                                       |                          |                   |                             |                   |                                       |        |       |
| * cumple el criterio de no inferioridad: límite superior por debajo del límite clínico de                                                                                                                   |                          |                   |                             |                   |                                       |        |       |
| 1.5 veces para la no inferioridad                                                                                                                                                                           |                          |                   |                             |                   |                                       |        |       |

| Variables del resultado secundario:                                                                                                                                                                                |             |                                          |       |             |      |        |      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|------------------------------------------|-------|-------------|------|--------|------|
| Índices de respuesta de Vacuna para los anticuerpos anti-PINTA, anti-FHA y anti-PRN un mes después de la que tercera vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV por el estado de seropositividad pre-vacunación - cohorte ATP |             |                                          |       |             |      |        |      |
| Anticuerpo                                                                                                                                                                                                         | Grupo       | Estado de seropositividad pre-vacunación | N     | Respondedor |      |        |      |
|                                                                                                                                                                                                                    |             |                                          |       | n           | %    | 95% CI |      |
|                                                                                                                                                                                                                    |             |                                          |       |             |      | LL     | UL   |
| anti-PT                                                                                                                                                                                                            | Separado    | Seropositivo                             | 14    | 10          | 71.4 | 41.9   | 91.6 |
|                                                                                                                                                                                                                    |             | Seronegativo                             | 128   | 125         | 97.7 | 93.3   | 99.5 |
|                                                                                                                                                                                                                    |             | Total                                    | 142   | 135         | 95.1 | 90.1   | 98.0 |
|                                                                                                                                                                                                                    | Escalonado  | Seropositivo                             | 16    | 14          | 87.5 | 61.7   | 98.4 |
|                                                                                                                                                                                                                    |             | Seronegativo                             | 136   | 134         | 98.5 | 94.8   | 99.8 |
|                                                                                                                                                                                                                    |             | Total                                    | 152   | 148         | 97.4 | 93.4   | 99.3 |
|                                                                                                                                                                                                                    | Combinación | Seropositivo                             | 18    | 18          | 100  | 81.5   | 100  |
|                                                                                                                                                                                                                    |             | Seronegativo                             | 137   | 135         | 98.5 | 94.8   | 99.8 |
|                                                                                                                                                                                                                    |             | Total                                    | 155   | 153         | 98.7 | 95.4   | 99.8 |
| anti-FHA                                                                                                                                                                                                           | Separado    | Seropositivo                             | 86    | 81          | 94.2 | 87.0   | 98.1 |
|                                                                                                                                                                                                                    |             | Seronegativo                             | 55    | 55          | 100  | 93.5   | 100  |
|                                                                                                                                                                                                                    |             | Total                                    | 141   | 136         | 96.5 | 91.9   | 98.8 |
|                                                                                                                                                                                                                    | Escalonado  | Seropositivo                             | 92    | 89          | 96.7 | 90.8   | 99.3 |
|                                                                                                                                                                                                                    |             | Seronegativo                             | 61    | 61          | 100  | 94.1   | 100  |
|                                                                                                                                                                                                                    |             | Total                                    | 153   | 150         | 98.0 | 94.4   | 99.6 |
|                                                                                                                                                                                                                    | Combinación | Seropositivo                             | 95 59 | 93          | 97.9 | 92.6   | 99.7 |
|                                                                                                                                                                                                                    |             | Seronegativo                             | 154   | 59          | 100  | 93.9   | 100  |
|                                                                                                                                                                                                                    |             | Total                                    |       | 152         | 98.7 | 95.4   | 99.8 |

5

10

15

20

25

|          |             |              |       |       |      |      |      |
|----------|-------------|--------------|-------|-------|------|------|------|
| anti-PRN | Separado    | Seropositivo | 66    | 59 76 | 89.4 | 79.4 | 95.6 |
|          |             | Seronegativo | 76    | 135   | 100  | 95.3 | 100  |
|          |             | Total        | 142   |       | 95.1 | 90.1 | 98.0 |
|          | Escalonado  | Seropositivo | 71 83 | 62    | 87.3 | 77.3 | 94.0 |
|          |             | Seronegativo | 154   | 83    | 100  | 95.7 | 100  |
|          |             | Total        |       | 145   | 94.2 | 89.2 | 97.3 |
|          | Combinación | Seropositivo | 85    | 72 71 | 84.7 | 75.3 | 91.6 |
|          |             | Seronegativo | 71    | 143   | 100  | 94.9 | 100  |
|          |             | Total        | 156   |       | 91.7 | 86.2 | 95.5 |

N = número de sujetos con resultados disponibles pre- y post-vacunación

n = número de respondedores

% =  $n/N \times 100$

95% CI = 95% intervalo de confianza exacto; LL = límite inferior, UL = límite superior

Total = sujetos seropositivos o seronegativos en la pre-vacunación

La respuesta de vacuna a PT, FHA y PRN se define como la aparición de anticuerpos en los sujetos que fueron inicialmente seronegativos (es decir, con concentraciones de < valor límite) o por lo menos la mantención de las concentraciones de anticuerpo pre-vacunación en los sujetos que fueron inicialmente seropositivos (es decir, con concentraciones < valor límite).

108

5

10

15

20

25

| Variables de resultado secundario:                                                                                                                                                                    |             |        |     |           |      |        |       |       |        |       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------|-----|-----------|------|--------|-------|-------|--------|-------|
| Índices de seropositividad y GMCs para concentraciones de anticuerpo anti-PT, anti-FHA y anti-PRN antes de la vacunación y un mes después de la tercera vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV - cohorte ATP |             |        |     |           |      |        |       |       |        |       |
| Anti-cuerpo                                                                                                                                                                                           | Grupo       | Tiempo | N   | 5 EL.U/ml |      |        |       | GMC   |        |       |
|                                                                                                                                                                                                       |             |        |     | n         | %    | 95% CI |       | Valor | 95% CI |       |
|                                                                                                                                                                                                       |             |        |     |           |      | LL     | UL    |       | LL     | UL    |
| anti-PT                                                                                                                                                                                               | Separado    | PRE    | 143 | 15        | 10.5 | 6.0    | 16.7  | 2.9   | 2.7    | 3.1   |
|                                                                                                                                                                                                       |             | PIII   | 155 | 151       | 97.4 | 93.5   | 99.3  | 28.9  | 25.2   | 33.2  |
|                                                                                                                                                                                                       | Escalonado  | PRE    | 155 | 17        | 11.0 | 6.5    | 17.0  | 2.9   | 2.7    | 3.2   |
|                                                                                                                                                                                                       |             | PIII   | 158 | 155       | 98.1 | 94.6   | 99.6  | 50.3  | 44.6   | 56.7  |
|                                                                                                                                                                                                       | Combinación | PRE    | 156 | 18        | 11.5 | 7.0    | 17.6  | 2.8   | 2.7    | 3.0   |
|                                                                                                                                                                                                       |             | PIII   | 168 | 166       | 98.8 | 95.8   | 99.9  | 48.7  | 42.8   | 55.4  |
| anti-FHA                                                                                                                                                                                              | Separado    | PRE    | 142 | 87        | 61.3 | 52.7   | 69.3  | 6.5   | 5.6    | 7.6   |
|                                                                                                                                                                                                       |             | PIII   | 155 | 154       | 99.4 | 96.5   | 100.0 | 96.4  | 85.5   | 108.7 |
|                                                                                                                                                                                                       | Escalonado  | PRE    | 156 | 94        | 60.3 | 52.1   | 68.0  | 6.7   | 5.7    | 7.9   |

5

10

15

20

25

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                  |      |     |     |       |      |       |       |       |       |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------|-----|-----|-------|------|-------|-------|-------|-------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                  | PIII | 158 | 158 | 100.0 | 97.7 | 100.0 | 117.7 | 105.9 | 130.9 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Combin-<br>ación | PRE  | 155 | 95  | 61.3  | 53.1 | 69.0  | 6.8   | 5.8   | 8.0   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                  | PIII | 168 | 168 | 100.0 | 97.8 | 100.0 | 113.7 | 101.5 | 127.3 |
| anti-PRN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Separado         | PRE  | 143 | 67  | 46.9  | 38.5 | 55.4  | 5.3   | 4.5   | 6.2   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                  | PIII | 155 | 153 | 98.7  | 95.4 | 99.8  | 79.1  | 66.8  | 93.6  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Escalon-<br>ado  | PRE  | 157 | 72  | 45.9  | 37.9 | 54.0  | 5.5   | 4.7   | 6.4   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                  | PIII | 158 | 158 | 100.0 | 97.7 | 100.0 | 99.5  | 87.5  | 113.2 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Combin-<br>ación | PRE  | 157 | 85  | 54.1  | 46.0 | 62.1  | 6.4   | 5.4   | 7.5   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                  | PIII | 168 | 168 | 100.0 | 97.8 | 100.0 | 93.7  | 82.3  | 106.7 |
| <p>N = número de sujetos con resultados disponibles</p> <p>n = número de sujetos con concentración por encima del límite especificado</p> <p>% = <math>n/N \times 100</math></p> <p>95% CI = 95% intervalo de confianza; LL = límite inferior; UL = límite superior</p> <p>PRE = inmediatamente antes de la primera vacunación</p> <p>PIII = aproximadamente un mes después de la tercera vacunación de DTaP/DTaP-<br/>HBV-IPV (aproximadamente 7 meses de edad)</p> |                  |      |     |     |       |      |       |       |       |       |

110

5

| Variables de resultado secundario:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                  |          |     |           |       |        |       |        |        |        |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|----------|-----|-----------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|
| Índices de Seroprotección y GMCs para el anticuerpo anti-HBs antes de la<br>vacunación y un mes después de la tercera vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV -<br>cohorte ATP                                                                                                                                                                                                                                                                                |                  |          |     |           |       |        |       |        |        |        |
| Anti-<br>cuerpo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Grupo            | Tiempo   | N   | 10 mIU/ml |       |        |       | GMC    |        |        |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                  |          |     | n         | %     | 95% CI |       | Valor  | 95% CI |        |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                  |          |     |           |       | LL     | UL    |        | LL     | UL     |
| Total de sujetos sin importar el estado de vacunación de hepatitis B antes del ingreso<br>al estudio                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                  |          |     |           |       |        |       |        |        |        |
| anti-HBs                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Separado         | PRE PIII | 141 | 16        | 11.3  | 6.6    | 17.8  | 6.7    | 5.7    | 7.9    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                  |          | 154 | 152       | 98.7  | 95.4   | 99.8  | 667.5  | 534.1  | 834.3  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Escalon-<br>ado  | PRE PIII | 151 | 26        | 17.2  | 11.6   | 24.2  | 8.8    | 7.1    | 11.0   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                  |          | 158 | 158       | 100.0 | 97.7   | 100.0 | 1515.3 | 1250.6 | 1835.9 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Combin-<br>ación | PRE PIII | 150 | 34        | 22.7  | 16.2   | 30.2  | 10.1   | 7.9    | 13.0   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                  |          | 167 | 164       | 98.2  | 94.8   | 99.6  | 1123.6 | 912.0  | 1384.2 |
| N = número de sujetos con resultados disponibles<br><br>n = número de sujetos con concentración por encima del límite especificado<br><br>$\% = n/N \times 100$<br><br>95% CI = 95% intervalo de confianza; LL = un límite inferior; UL = límite superior<br><br>PRE = inmediatamente antes de la primera vacunación<br><br>PIII = aproximadamente un mes después de la tercera vacunación de DTaP/DTaP-<br>HBV-IPV (aproximadamente 7 meses de edad) |                  |          |     |           |       |        |       |        |        |        |

10

15

20

25

AAA

| Variables de resultado secundario:                                                                                                                               |        |     |            |       |        |       |         |      |        |      |       |        |        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|-----|------------|-------|--------|-------|---------|------|--------|------|-------|--------|--------|
| Índices de Seroprotección y GMCs para el anticuerpo anti-PRP antes de la vacunación y un mes después de la tercera vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV - cohorte ATP |        |     |            |       |        |       |         |      |        |      |       |        |        |
| Grupo                                                                                                                                                            | Tiempo | N   | 0.15 µg/ml |       |        |       | 1 µg/ml |      |        |      | GMC   |        |        |
|                                                                                                                                                                  |        |     | n          | %     | 95% CI |       | n       | %    | 95% CI |      | Valor | 95% CI |        |
|                                                                                                                                                                  |        |     |            |       | LL     | LIL   |         |      | LL     | UL   |       | LL     | UL     |
| Separado                                                                                                                                                         | PRE    | 143 | 101        | 70.6  | 62.4   | 77.9  | 13      | 9.1  | 4.9    | 15.0 | 0.247 | 0.209  | 0.293  |
|                                                                                                                                                                  | PIII   | 155 | 154        | 99.4  | 96.5   | 100.0 | 141     | 91.0 | 85.3   | 95.0 | 9.246 | 7.378  | 11.587 |
| Escalonado                                                                                                                                                       | PRE    | 156 | 103        | 66.0  | 58.0   | 73.4  | 15      | 9.6  | 5.5    | 15.4 | 0.215 | 0.184  | 0.252  |
|                                                                                                                                                                  | PIII   | 158 | 158        | 100.0 | 97.7   | 100.0 | 150     | 94.9 | 90.3   | 97.8 | 8.384 | 7.020  | 10.013 |
| Combinación                                                                                                                                                      | PRE    | 157 | 107        | 68.2  | 60.3   | 75.4  | 14      | 8.9  | 5.0    | 14.5 | 0.224 | 0.193  | 0.261  |
|                                                                                                                                                                  | PIII   | 168 | 168        | 100.0 | 97.8   | 100.0 | 161     | 95.8 | 91.6   | 98.3 | 9.619 | 7.995  | 11.572 |
| N = número de sujetos con resultados disponibles                                                                                                                 |        |     |            |       |        |       |         |      |        |      |       |        |        |
| n = número de sujetos con concentración por encima del límite especificado                                                                                       |        |     |            |       |        |       |         |      |        |      |       |        |        |
| % = n/N x 100                                                                                                                                                    |        |     |            |       |        |       |         |      |        |      |       |        |        |
| 95% CI = 95% intervalo de confianza; LL = un límite inferior; UL = límite superior                                                                               |        |     |            |       |        |       |         |      |        |      |       |        |        |
| PRE = inmediatamente antes de la primera vacunación                                                                                                              |        |     |            |       |        |       |         |      |        |      |       |        |        |
| PIII = aproximadamente un mes después de la tercera vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV (aproximadamente 7 meses de edad)                                            |        |     |            |       |        |       |         |      |        |      |       |        |        |

| Variables de resultado secundario:                                                                                                                                                                                               |             |        |     |            |       |        |       |       |        |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------|-----|------------|-------|--------|-------|-------|--------|------|
| Índices de Seroprotección y GMCs para los anticuerpos anti- <i>S. pneumoniae</i> de serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, y 23F antes de la vacunación y un mes después de la tercera vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV - cohorte ATP |             |        |     |            |       |        |       |       |        |      |
| anti-<br><i>S.pneumoniae</i><br>serotipo                                                                                                                                                                                         | Grupo       | Tiempo | N   | 0.05 pg/ml |       |        |       | GMC   |        |      |
|                                                                                                                                                                                                                                  |             |        |     | n          | %     | 95% CI |       | Valor | 95% CI |      |
|                                                                                                                                                                                                                                  |             |        |     |            |       | LL     | UL    |       | LL     | UL   |
| 4                                                                                                                                                                                                                                | Separado    | PRE    | 128 | 38         | 29.7  | 21.9   | 38.4  | 0.04  | 0.04   | 0.05 |
|                                                                                                                                                                                                                                  |             | PII    | 156 | 156        | 100.0 | 97.7   | 100.0 | 2.07  | 1.81   | 2.37 |
|                                                                                                                                                                                                                                  | Escalonado  | PRE    | 141 | 39         | 27.7  | 20.5   | 35.8  | 0.04  | 0.04   | 0.05 |
|                                                                                                                                                                                                                                  |             | PIIIP  | 155 | 155        | 100.0 | 97.6   | 100.0 | 1.62  | 1.44   | 1.83 |
|                                                                                                                                                                                                                                  | Combinación | PRE    | 144 | 47         | 32.6  | 25.1   | 40.9  | 0.04  | 0.04   | 0.05 |
|                                                                                                                                                                                                                                  |             | PIII   | 164 | 163        | 99.4  | 96.6   | 100.0 | 1.74  | 1.54   | 1.98 |
| 6B                                                                                                                                                                                                                               | Separado    | PRE    | 132 | 69         | 52.3  | 43.4   | 61.0  | 0.07  | 0.06   | 0.09 |
|                                                                                                                                                                                                                                  |             | PIII   | 148 | 134        | 90.5  | 84.6   | 94.7  | 0.67  | 0.52   | 0.87 |
|                                                                                                                                                                                                                                  | Escalonado  | PRE    | 142 | 75         | 52.8  | 44.3   | 61.2  | 0.08  | 0.06   | 0.09 |
|                                                                                                                                                                                                                                  |             | PIIIP  | 154 | 148        | 96.1  | 91.7   | 98.6  | 0.59  | 0.49   | 0.72 |
|                                                                                                                                                                                                                                  | Combinación | PRE    | 146 | 82         | 56.2  | 47.7   | 64.4  | 0.10  | 0.08   | 0.13 |
|                                                                                                                                                                                                                                  |             | PIII   | 163 | 156        | 95.7  | 91.4   | 98.3  | 0.80  | 0.65   | 0.99 |
| 9V                                                                                                                                                                                                                               | Separado    | PRE    | 126 | 63         | 50.0  | 41.0   | 59.0  | 0.07  | 0.06   | 0.09 |
|                                                                                                                                                                                                                                  |             | PIII   | 151 | 151        | 100.0 | 97.6   | 100.0 | 1.60  | 1.39   | 1.85 |
|                                                                                                                                                                                                                                  | Escalonado  | PRE    | 135 | 81         | 60.0  | 51.2   | 68.3  | 0.08  | 0.07   | 0.10 |
|                                                                                                                                                                                                                                  |             | PIIIP  | 150 | 150        | 100.0 | 97.6   | 100.0 | 1.11  | 0.97   | 1.28 |
|                                                                                                                                                                                                                                  | Combinación | PRE    | 138 | 77         | 55.8  | 47.1   | 64.2  | 0.08  | 0.06   | 0.10 |
|                                                                                                                                                                                                                                  |             | PIII   | 163 | 163        | 100.0 | 97.8   | 100.0 | 1.55  | 1.36   | 1.77 |

113

5

10

15

20

25

|     |             |       |     |     |       |      |       |      |      |      |
|-----|-------------|-------|-----|-----|-------|------|-------|------|------|------|
| 14  | Separado    | PRE   | 130 | 121 | 93.1  | 87.3 | 96.8  | 0.46 | 0.35 | 0.61 |
|     |             | PIII  | 156 | 156 | 100.0 | 97.7 | 100.0 | 6.32 | 5.39 | 7.41 |
|     | Escalonado  | PRE   | 141 | 129 | 91.5  | 85.6 | 95.5  | 0.38 | 0.30 | 0.48 |
|     |             | PIIIP | 154 | 154 | 100.0 | 97.6 | 100.0 | 4.51 | 3.91 | 5.19 |
|     | Combinación | PRE   | 146 | 137 | 93.8  | 88.6 | 97.1  | 0.60 | 0.46 | 0.77 |
|     |             | PIII  | 166 | 166 | 100.0 | 97.8 | 100.0 | 4.68 | 4.04 | 5.43 |
| 18C | Separado    | PRE   | 129 | 75  | 58.1  | 49.1 | 66.8  | 0.09 | 0.07 | 0.12 |
|     |             | PIII  | 153 | 153 | 100.0 | 97.6 | 100.0 | 2.96 | 2.53 | 3.47 |
|     | Escalonado  | PRE   | 139 | 85  | 61.2  | 52.5 | 69.3  | 0.09 | 0.07 | 0.11 |
|     |             | PIIIP | 156 | 156 | 100.0 | 97.7 | 100.0 | 2.37 | 2.06 | 2.72 |
|     | Combinación | PRE   | 143 | 90  | 62.9  | 54.5 | 70.9  | 0.11 | 0.09 | 0.14 |
|     |             | PIII  | 167 | 166 | 99.4  | 96.7 | 100.0 | 2.63 | 2.31 | 3.00 |
| 19F | Separado    | PRE   | 131 | 101 | 77.1  | 68.9 | 84.0  | 0.18 | 0.14 | 0.23 |
|     |             | PIII  | 147 | 147 | 100.0 | 97.5 | 100.0 | 1.05 | 0.91 | 1.22 |
|     | Escalonado  | PRE   | 140 | 112 | 80.0  | 72.4 | 86.3  | 0.19 | 0.15 | 0.24 |
|     |             | PIIIP | 149 | 149 | 100.0 | 97.6 | 100.0 | 0.75 | 0.66 | 0.86 |
|     | Combinación | PRE   | 143 | 118 | 82.5  | 75.3 | 88.4  | 0.27 | 0.21 | 0.34 |
|     |             | PIII  | 161 | 160 | 99.4  | 96.6 | 100.0 | 1.09 | 0.95 | 1.25 |
| 23F | Separado    | PRE   | 128 | 66  | 51.6  | 42.6 | 60.5  | 0.07 | 0.06 | 0.09 |
|     |             | PIII  | 146 | 141 | 96.6  | 92.2 | 98.9  | 1.81 | 1.45 | 2.25 |
|     | Escalonado  | PRE   | 137 | 81  | 59.1  | 50.4 | 67.4  | 0.09 | 0.07 | 0.11 |
|     |             | PIIIP | 153 | 150 | 98.0  | 94.4 | 99.6  | 1.29 | 1.09 | 1.53 |
|     | Combinación | PRE   | 140 | 79  | 56.4  | 47.8 | 64.8  | 0.11 | 0.08 | 0.14 |
|     |             | PIII  | 162 | 158 | 97.5  | 93.8 | 99.3  | 1.48 | 1.23 | 1.79 |

N = número de sujetos con resultados disponibles  
n = número de sujetos con concentración por encima del límite especificado  
% =  $n/N \times 100$   
95% CI = 95% intervalo de confianza; LL = un límite inferior; UL = límite superior  
PRE = inmediatamente antes de la primera vacunación  
PIII = aproximadamente un mes después de la tercera vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV (aproximadamente 7 meses de edad)  
PIIIP = aproximadamente dos semanas después de la tercera vacunación de PnC para sujetos en el Grupo de Vacuna Escalonada (aproximadamente 7 meses de edad)

| Variables de resultado secundario:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |             |        |     |             |       |        |       |       |        |       |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------|-----|-------------|-------|--------|-------|-------|--------|-------|
| Índices Seroprotección y GMCs para las concentraciones de anticuerpo anti-difteria y anti-tétanos anticuerpo antes de la vacunación y un mes después de la tercera vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV – cohorte ATP                                                                                                                                                                                                             |             |        |     |             |       |        |       |       |        |       |
| Anti-cuerpo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Grupo       | Tiempo | N   | ≥ 0.1 IU/ml |       |        |       | GMC   |        |       |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |             |        |     | n           | %     | 95% CI |       | Valor | 95% CI |       |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |             |        |     |             |       | LL     | UL    |       | LL     | UL    |
| anti-D                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Separado    | PRE    | 143 | 75          | 52.4  | 43.9   | 60.9  | 0.117 | 0.100  | 0.137 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |             | PIII   | 155 | 153         | 98.7  | 95.4   | 99.8  | 1.564 | 1.354  | 1.806 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Escalonado  | PRE    | 157 | 76          | 48.4  | 40.4   | 56.5  | 0.111 | 0.095  | 0.128 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |             | PIII   | 157 | 157         | 100.0 | 97.7   | 100.0 | 3.238 | 2.889  | 3.630 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Combinación | PRE    | 157 | 64          | 40.8  | 33.0   | 48.9  | 0.096 | 0.083  | 0.111 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |             | PIII   | 168 | 167         | 99.4  | 96.7   | 100.0 | 1.987 | 1.761  | 2.242 |
| anti-T                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Separado    | PRE    | 143 | 134         | 93.7  | 88.4   | 97.1  | 0.583 | 0.489  | 0.696 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |             | PIII   | 155 | 152         | 98.1  | 94.4   | 99.6  | 1.346 | 1.166  | 1.554 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Escalonado  | PRE    | 157 | 142         | 90.4  | 84.7   | 94.6  | 0.561 | 0.468  | 0.672 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |             | PIII   | 158 | 158         | 100.0 | 97.7   | 100.0 | 2.240 | 2.017  | 2.487 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Combinación | PRE    | 157 | 143         | 91.1  | 85.5   | 95.0  | 0.527 | 0.443  | 0.628 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |             | PIII   | 168 | 168         | 100.0 | 97.8   | 100.0 | 2.428 | 2.180  | 2.704 |
| N = número de sujetos con resultados disponibles<br>n = número de sujetos con concentración por encima del límite especificado<br>% = $n/N \times 100$<br>95% CI = 95% intervalo de confianza; LL = un límite inferior; UL = límite superior<br>PRE = inmediatamente antes de la primera vacunación<br>PIII = aproximadamente un mes después de la tercera vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV (aproximadamente 7 meses de edad) |             |        |     |             |       |        |       |       |        |       |

MS

| Variables de resultado secundario:                                                                                                                                                                                                                                  |             |         |     |       |       |        |       |        |        |        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|---------|-----|-------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|
| Índices de Seroprotección y GMTs para los títulos de anti-cuerpo anti-virus de polio tipo 1, anti-virus de polio tipo 2 y anti-virus de polio tipo 3 antes de la vacunación y un mes después de la tercera vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV – cohorte total vacunada |             |         |     |       |       |        |       |        |        |        |
| Anticuerpo                                                                                                                                                                                                                                                          | Grupo       | Tiempo  | N   | ≥ 1:8 |       |        |       | GMT    |        |        |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     |             |         |     | n     | %     | 95% CI |       | Valor  | 95% CI |        |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     |             |         |     |       |       | LL     | UL    |        | LL     | UL     |
| anti-virus de polio 1                                                                                                                                                                                                                                               | Separado    | PRE     | 143 | 115   | 80.4  | 73.0   | 86.6  | 22.0   | 17.8   | 27.2   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     |             | PIII    | 153 | 153   | 100.0 | 97.6   | 100.0 | 225.0  | 191.3  | 264.7  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     | Escalonado  | PRE     | 152 | 120   | 78.9  | 71.6   | 85.1  | 20.7   | 16.9   | 25.3   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     |             | PIII    | 156 | 156   | 100.0 | 97.7   | 100.0 | 793.1  | 660.3  | 952.7  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     | Combinación | PRE     | 153 | 121   | 79.1  | 71.8   | 85.2  | 20.7   | 16.7   | 25.5   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     |             | PIII    | 168 | 168   | 100.0 | 97.8   | 100.0 | 678.0  | 568.1  | 809.2  |
| anti-virus de polio 2                                                                                                                                                                                                                                               | Separado    | PRE     | 143 | 100   | 69.9  | 61.7   | 77.3  | 13.8   | 11.5   | 16.6   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     |             | PIII    | 153 | 153   | 100.0 | 97.6   | 100.0 | 228.1  | 198.1  | 262.7  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     | Escalonado  | PRE PHI | 152 | 106   | 69.7  | 61.8   | 76.9  | 13.5   | 11.3   | 16.0   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     |             |         | 156 | 156   | 100.0 | 97.7   | 100.0 | 608.8  | 500.8  | 740.2  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     | Combinación | PRE     | 153 | 124   | 81.0  | 73.9   | 86.9  | 15.0   | 12.7   | 17.8   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     |             | PIII    | 168 | 168   | 100.0 | 97.8   | 100.0 | 578.3  | 479.3  | 697.8  |
| anti-virus de polio 3                                                                                                                                                                                                                                               | Separado    | PRE     | 143 | 39    | 27.3  | 20.2   | 35.3  | 6.0    | 5.2    | 6.9    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     |             | PIII    | 153 | 153   | 100.0 | 97.6   | 100.0 | 454.2  | 390.6  | 528.2  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     | Escalonado  | PRE     | 152 | 37    | 24.3  | 17.8   | 32.0  | 5.8    | 5.2    | 6.6    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     |             | PIII    | 156 | 156   | 100.0 | 97.7   | 100.0 | 1167.5 | 973.9  | 1399.6 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     | Combinación | PRE     | 153 | 49    | 32.0  | 24.7   | 40.0  | 6.8    | 5.8    | 8.1    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                     |             | PIII    | 168 | 168   | 100.0 | 97.8   | 100.0 | 1269.2 | 1061.3 | 1517.8 |
| N = número de sujetos con resultados disponibles                                                                                                                                                                                                                    |             |         |     |       |       |        |       |        |        |        |
| n = número de sujetos con concentración por encima del límite especificado                                                                                                                                                                                          |             |         |     |       |       |        |       |        |        |        |
| $\% = n/N \times 100$                                                                                                                                                                                                                                               |             |         |     |       |       |        |       |        |        |        |
| 95% CI = 95% intervalo de confianza; LL = un límite inferior; UL = límite superior                                                                                                                                                                                  |             |         |     |       |       |        |       |        |        |        |
| PRE = inmediatamente antes de la primera vacunación                                                                                                                                                                                                                 |             |         |     |       |       |        |       |        |        |        |
| PIII = aproximadamente un mes después de la tercera vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV (aproximadamente 7 meses de edad)                                                                                                                                               |             |         |     |       |       |        |       |        |        |        |

AMB

5

10

15

20

25

| Variables de resultado secundario:                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                        |                          |      |        |      |                            |      |        |      |                                |      |        |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|--------------------------|------|--------|------|----------------------------|------|--------|------|--------------------------------|------|--------|------|
| Incidencia de fiebre, excluyendo la dosis sin el registro de la temperatura o mediciones timpánicas, por la relación de intensidad y causa reportada en el periodo de cuatro días después de la vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV (día 0 - día 3), mediante la dosis y a través de las dosis – cohorte total vacunada |                        |                          |      |        |      |                            |      |        |      |                                |      |        |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Temperatura Rectal *   | Grupo de Vacuna Separado |      |        |      | Grupo de Vacuna Escalonada |      |        |      | Grupo de Vacuna de Combinación |      |        |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                        | n                        | %    | 95% CI |      | n                          | %    | 95% CI |      | n                              | %    | 95% CI |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                        |                          |      | LL     | UL   |                            |      | LL     | UL   |                                |      | LL     | UL   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                        |                          |      |        |      |                            |      |        |      |                                |      |        |      |
| Dosis 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                        | N = 187                  |      |        |      | N=185                      |      |        |      | N = 197                        |      |        |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | > 38.0°C               | 40                       | 21.4 | 15.7   | 28.0 | 35                         | 18.9 | 13.5   | 25.3 | 63                             | 32.0 | 25.5   | 39.0 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | > 38,5°C               | 9                        | 4.8  | 2.2    | 8.9  | 3                          | 1.6  | 0.3    | 4.7  | 12                             | 6.1  | 3.2    | 10.4 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | > 39°C                 | 2                        | 1,1  | 0.1    | 3.8  | 2                          | 1.1  | 0.1    | 3.9  | 4                              | 2.0  | 0.6    | 5.1  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | > 39.5°C               | 0                        | 0.0  | 0.0    | 2.0  | 0                          | 0.0  | 0.0    | 2.0  | 1                              | 0.5  | 0.0    | 2.8  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Relacionada comúnmente | 33                       | 17.6 | 12.5   | 23.9 | 33                         | 17.8 | 12.6   | 24.1 | 62                             | 31.5 | 25.1   | 38.5 |
| Dosis 2                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                        | N = 180                  |      |        |      | N = 181                    |      |        |      | N = 192                        |      |        |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | > 38.0°C               | 59                       | 32.8 | 26.0   | 40.2 | 49                         | 27.1 | 20.7   | 34.2 | 82                             | 42.7 | 35.6   | 50.0 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | > 38.5°C               | 13                       | 7.2  | 3.9    | 12.0 | 10                         | 5.5  | 2.7    | 9.9  | 21                             | 10.9 | 6.9    | 16.2 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | > 39°C                 | 1                        | 0.6  | 0.0    | 3.1  | 7                          | 3.9  | 1.6    | 7.8  | 9                              | 4.7  | 2.2    | 8,7  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | > 39.5°C               | 0                        | 0.0  | 0.0    | 2.0  | 0                          | 0.0  | 0.0    | 2.0  | 2                              | 1.0  | 0.1    | 3.7  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Relacionada comúnmente | 55                       | 30.6 | 23.9   | 37.8 | 46                         | 25.4 | 19.2   | 32.4 | 77                             | 40.1 | 33.1   | 47.4 |

MA

5

10

15

20

25

| Dosis 3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                        | N = 176 |      |      |      | N = 180  |      |      |      | N = 190   |      |      |      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|---------|------|------|------|----------|------|------|------|-----------|------|------|------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | > 38.0°C               | 53      | 30.1 | 23.4 | 37.5 | 41       | 22.8 | 16.9 | 29.6 | 68        | 35.8 | 29.0 | 43.0 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | > 38.5°C               | 12      | 6.8  | 3.6  | 11.6 | 9        | 5.0  | 2,3  | 9,3  | 21        | 11.1 | 7.0  | 16.4 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | > 39°C                 | 6       | 3.4  | 1.3  | 7.3  | 3        | 1.7  | 0.3  | 4.8  | 8         | 4.2  | 1.8  | 8.1  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | > 39.5°C               | 1       | 0.6  | 0.0  | 3.1  | 1        | 0.6  | 0.0  | 3.1  | 2         | 1.1  | 0.1  | 3.8  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Relacionada comúnmente | 47      | 26.7 | 20.3 | 33.9 | 35       | 19.4 | 13.9 | 26.0 | 63        | 33.2 | 26.5 | 40.3 |
| A través de las dosis                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                        | N= 188  |      |      |      | N = 187" |      |      |      | N = 197** |      |      |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | > 38.0°C               | 101     | 53.7 | 46.3 | 61.0 | 87       | 46.5 | 39.2 | 53.9 | 134       | 68.0 | 61.0 | 74.5 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | > 38.5°C               | 30      | 16.0 | 11.0 | 22.0 | 21       | 11.2 | 7.1  | 16.7 | 45        | 22.8 | 17.2 | 29.3 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | > 39°C                 | 9       | 4.8  | 2.2  | 8.9  | 12       | 6.4  | 3.4  | 10.9 | 20        | 10.2 | 6,3  | 15,2 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | > 39.5°C               | 1       | 0.5  | 0.0  | 2.9  | 1        | 0.5  | 0.0  | 2.9  | 5         | 2.5  | 0.8  | 5.8  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Relacionada comúnmente | 94      | 50.0 | 42.6 | 57.4 | 82       | 43.9 | 36.6 | 51.3 | 130       | 66.0 | 58.9 | 72.6 |
| <p>N = número de sujetos con una hoja de síntomas completada</p> <p>n% = número/porcentaje de sujetos que reportan el síntoma específico</p> <p>95% CI = 95% de intervalo de confianza (método exacto para la proporción); LL = límite inferior; UL = límite superior</p> <p>*Fiebre (ruta rectal): temperatura ≥ 38.0°C (≥ 100.4°F). Los registros auxiliares fueron aumentados en 1°C para derivar las temperaturas rectales equivalentes y se incluyen.</p> <p>**Información post-vacunación no disponible en el grupo de vacuna escalonada y dos sujetos en el grupo de vacuna de combinación</p> |                        |         |      |      |      |          |      |      |      |           |      |      |      |

AAB

5

10

15

20

25

| Variables de resultado secundario:                                                                                                                                                                                                      |                        |                          |      |        |      |                            |      |        |      |                                |      |        |      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|--------------------------|------|--------|------|----------------------------|------|--------|------|--------------------------------|------|--------|------|
| Incidencia de los síntomas solicitados, excluyendo la fiebre, reportados en el periodo de cuatro días después de la vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV (día 0 - día 3), mediante la dosis y a través de las dosis – cohorte total vacunada |                        |                          |      |        |      |                            |      |        |      |                                |      |        |      |
|                                                                                                                                                                                                                                         | Intensidad             | Grupo de Vacuna Separado |      |        |      | Grupo de Vacuna Escalonada |      |        |      | Grupo de Vacuna de Combinación |      |        |      |
|                                                                                                                                                                                                                                         |                        | n                        | %    | 95% CI |      | n                          | %    | 95% CI |      | n                              | %    | 95% CI |      |
|                                                                                                                                                                                                                                         |                        |                          |      | LL     | UL   |                            |      | LL     | LIL  |                                |      | LL     | UL   |
|                                                                                                                                                                                                                                         |                        |                          |      |        |      |                            |      |        |      |                                |      |        |      |
| Dosis 1                                                                                                                                                                                                                                 |                        | N=187                    |      |        |      | N=187                      |      |        |      | N=198                          |      |        |      |
| Adormecimiento                                                                                                                                                                                                                          |                        |                          |      |        |      |                            |      |        |      |                                |      |        |      |
|                                                                                                                                                                                                                                         | Cualquiera             | 110                      | 58.8 | 51.4   | 66.0 | 107                        | 57.2 | 49.8   | 64.4 | 123                            | 62.1 | 55.0   | 68.9 |
|                                                                                                                                                                                                                                         | Grado 2 ó 3            | 34                       | 18.2 | 12.9   | 24.5 | 28                         | 15.0 | 10.2   | 20.9 | 37                             | 18.7 | 13.5   | 24,8 |
|                                                                                                                                                                                                                                         | Grado 3                | 4                        | 2.1  | 0.6    | 5.4  | 5                          | 2.7  | 0.9    | 6.1  | 4                              | 2.0  | 0.6    | 5.1  |
|                                                                                                                                                                                                                                         | Relacionada comúnmente | 107                      | 57.2 | 49.8   | 64.4 | 103                        | 55.1 | 47.7   | 62.3 | 120                            | 60.6 | 53.4   | 67.5 |
| Irritabilidad                                                                                                                                                                                                                           |                        |                          |      |        |      |                            |      |        |      |                                |      |        |      |
|                                                                                                                                                                                                                                         | Cualquiera             | 116                      | 62.0 | 54.7   | 69.0 | 119                        | 63.6 | 56.3   | 70.5 | 134                            | 67.7 | 60.7   | 74.1 |
|                                                                                                                                                                                                                                         | Grado 2 ó 3            | 39                       | 20.9 | 15.3   | 27.4 | 35                         | 18.7 | 13.4   | 25.1 | 46                             | 23.2 | 17.5   | 29.7 |
|                                                                                                                                                                                                                                         | Grado 3                | 2                        | 1.1  | 0.1    | 3.8  | 6                          | 3.2  | 1.2    | 6.9  | 10                             | 5.1  | 2.4    | 9.1  |
|                                                                                                                                                                                                                                         | Relacionada comúnmente | 113                      | 60.4 | 53.0   | 67.5 | 114                        | 61.0 | 53.6   | 68.0 | 132                            | 66.7 | 59.6   | 73,2 |
| Pérdida de apetito                                                                                                                                                                                                                      |                        |                          |      |        |      |                            |      |        |      |                                |      |        |      |
|                                                                                                                                                                                                                                         | Cualquiera             | 56                       | 29.9 | 23.5   | 37.1 | 56                         | 29.9 | 23.5   | 37.1 | 64                             | 32.3 | 25.9   | 39.3 |
|                                                                                                                                                                                                                                         | Grado 2 ó 3            | 9                        | 4.8  | 2.2    | 8.9  | 12                         | 6.4  | 3.4    | 10.9 | 13                             | 6.6  | 3.5    | 11.0 |
|                                                                                                                                                                                                                                         | Grado 3                | 1                        | 0.5  | 0.0    | 2.9  | 1                          | 0.5  | 0.0    | 2.9  | 0                              | 0.0  | 0.0    | 1.8  |
|                                                                                                                                                                                                                                         | Relacionada comúnmente | 56                       | 29.9 | 23.5   | 37.1 | 55                         | 29.4 | 23.0   | 36.5 | 61                             | 30.8 | 24.5   | 37.7 |

5

10

15

20

25

| Dosis 2            |                        | N=180 |      |      |      | N=183 |      |      |      | N=192 |      |      |      |
|--------------------|------------------------|-------|------|------|------|-------|------|------|------|-------|------|------|------|
| Adormecimiento     |                        |       |      |      |      |       |      |      |      |       |      |      |      |
|                    | Cualquiera             | 104   | 57.8 | 50.2 | 65.1 | 71    | 38.8 | 31.7 | 46.3 | 103   | 53.6 | 46.3 | 60.9 |
|                    | Grado 2 ó 3            | 25    | 13.9 | 9.2  | 19.8 | 17    | 9.3  | 5.5  | 14.5 | 28    | 14.6 | 9.9  | 20.4 |
|                    | Grado 3                | 3     | 1.7  | 0.3  | 4.8  | 0     | 0.0  | 0.0  | 2.0  | 5     | 2.6  | 0.9  | 6.0  |
|                    | Relacionada comúnmente | 99    | 55.0 | 47.4 | 62.4 | 68    | 37.2 | 30.1 | 44.6 | 96    | 50.0 | 42.7 | 57.3 |
| Irritabilidad      |                        |       |      |      |      |       |      |      |      |       |      |      |      |
|                    | Cualquiera             | 113   | 62.8 | 55.3 | 69.9 | 103   | 56.3 | 48.8 | 63.6 | 148   | 77.1 | 70.5 | 82.8 |
|                    | Grado 2 ó 3            | 41    | 22.8 | 16.9 | 29.6 | 34    | 18.6 | 13.2 | 25.0 | 68    | 35.4 | 28.7 | 42.6 |
|                    | Grado 3                | 8     | 4.4  | 1.9  | 8.6  | 4     | 2.2  | 0.6  | 5.5  | 9     | 4.7  | 2,2  | 8.7  |
|                    | Relacionada comúnmente | 110   | 61.1 | 53.6 | 68.3 | 101   | 55.2 | 47.7 | 62.5 | 143   | 74.5 | 67.7 | 80.5 |
| Pérdida de apetito |                        |       |      |      |      |       |      |      |      |       |      |      |      |
|                    | Cualquiera             | 50    | 27.8 | 21.4 | 34.9 | 44    | 24.0 | 18.0 | 30.9 | 53    | 27.6 | 21.4 | 34.5 |
|                    | Grado 2 ó 3            | 6     | 3.3  | 1.2  | 7.1  | 8     | 4.4  | 1.9  | 8.4  | 10    | 5.2  | 2.5  | 9.4  |
|                    | Grado 3                | 0     | 0.0  | 0.0  | 2.0  | 0     | 0.0  | 0.0  | 2.0  | 0     | 0.0  | 0.0  | 1.9  |
|                    | Relacionada comúnmente | 46    | 25.6 | 19.4 | 32.6 | 43    | 23.5 | 17.6 | 30.3 | 52    | 27.1 | 20.9 | 34.0 |
| Dosis 3            |                        | N=177 |      |      |      | N=180 |      |      |      | N=191 |      |      |      |
| Adormecimiento     |                        |       |      |      |      |       |      |      |      |       |      |      |      |
|                    | Cualquiera             | 84    | 47.5 | 39.9 | 55.1 | 61    | 33.9 | 27.0 | 41.3 | 90    | 47.1 | 39.9 | 54.5 |
|                    | Grado 2 ó 3            | 19    | 10.7 | 6.6  | 16.3 | 12    | 6.7  | 3.5  | 11.4 | 23    | 12.0 | 7.8  | 17.5 |
|                    | Grado 3                | 1     | 0.6  | 0.0  | 3.1  | 1     | 0.6  | 0.0  | 3.1  | 1     | 0.5  | 0.0  | 2.9  |
|                    | Relacionada comúnmente | 77    | 43.5 | 36.1 | 51.1 | 55    | 30.6 | 23.9 | 37.8 | 85    | 44.5 | 37.3 | 51.9 |

5

10

15

20

25

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                        |       |      |      |      |        |      |      |      |        |      |      |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-------|------|------|------|--------|------|------|------|--------|------|------|------|
| Irritabilidad                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                        |       |      |      |      |        |      |      |      |        |      |      |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Cualquiera             | 104   | 58.8 | 51.1 | 66.1 | 99     | 55.0 | 47.4 | 62.4 | 131    | 68.6 | 61.5 | 75.1 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Grado 2 ó 3            | 34    | 19.2 | 13.7 | 25.8 | 29     | 16.1 | 11.1 | 22.3 | 48     | 25.1 | 19.1 | 31.9 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Grado 3                | 4     | 2.3  | 0.6  | 5.7  | 7      | 3.9  | 1.6  | 7.8  | 10     | 5.2  | 2.5  | 9.4  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Relacionada comúnmente | 101   | 57.1 | 49.4 | 64.5 | 96     | 53.3 | 45.8 | 60.8 | 127    | 66.5 | 59.3 | 73.1 |
| Pérdida de apetito                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                        |       |      |      |      |        |      |      |      |        |      |      |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Cualquiera             | 53    | 29.9 | 23.3 | 37.3 | 40     | 22.2 | 16.4 | 29.0 | 65     | 34.0 | 27.3 | 41.2 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Grado 2 ó 3            | 12    | 6.8  | 3.6  | 11.5 | 8      | 4.4  | 1.9  | 8.6  | 13     | 6.8  | 3.7  | 11.4 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Grado 3                | 1     | 0.6  | 0.0  | 3.1  | 1      | 0.6  | 0.0  | 3.1  | 3      | 1.6  | 0.3  | 4.5  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Relacionada comúnmente | 49    | 27.7 | 21.2 | 34.9 | 34     | 18.9 | 13.5 | 25.4 | 61     | 31.9 | 25.4 | 39.1 |
| Dosis cruzadas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                        | N=188 |      |      |      | N=187* |      |      |      | N=198* |      |      |      |
| Adormecimiento                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                        |       |      |      |      |        |      |      |      |        |      |      |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Cualquiera             | 145   | 77.1 | 70.5 | 82.9 | 131    | 70.1 | 62.9 | 76.5 | 159    | 80.3 | 74.1 | 85.6 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Grado 2 ó 3            | 59    | 31.4 | 24.8 | 38.5 | 46     | 24.6 | 18.6 | 31.4 | 63     | 31.8 | 25.4 | 38.8 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Grado 3                | 8     | 4.3  | 1.9  | 8.2  | 6      | 3.2  | 1.2  | 6.9  | 9      | 4.5  | 2.1  | 8.5  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Relacionada comúnmente | 139   | 73.9 | 67.0 | 80.1 | 128    | 68.4 | 61.3 | 75.0 | 154    | 77.8 | 71.3 | 83.4 |
| Irritabilidad                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                        |       |      |      |      |        |      |      |      |        |      |      |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Cualquiera             | 157   | 83.5 | 77.4 | 88.5 | 158    | 84.5 | 78.5 | 89.4 | 185    | 93.4 | 89.0 | 96.5 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Grado 2 ó 3            | 86    | 45.7 | 38.5 | 53.2 | 72     | 38.5 | 31.5 | 45.9 | 109    | 55.1 | 47.8 | 62.1 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Grado 3                | 14    | 7.4  | 4.1  | 12.2 | 14     | 7.5  | 4.2  | 12.2 | 25     | 12.6 | 8.3  | 18.1 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Relacionada comúnmente | 155   | 82.4 | 76.2 | 87.6 | 155    | 82.9 | 76.7 | 88.0 | 181    | 91.4 | 86.6 | 94.9 |
| Pérdida de apetito                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                        |       |      |      |      |        |      |      |      |        |      |      |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Cualquiera             | 101   | 53.7 | 46.3 | 61.0 | 87     | 46.5 | 39.2 | 53.9 | 116    | 58.6 | 51.4 | 65.5 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Grado 2 ó 3            | 22    | 11.7 | 7.5  | 17.2 | 26     | 13.9 | 9.3  | 19.7 | 28     | 14.1 | 9.6  | 19.8 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Grado 3                | 2     | 1.1  | 0.1  | 3.8  | 2      | 1.1  | 0.1  | 3.8  | 3      | 1.5  | 0.3  | 4.4  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Relacionada comúnmente | 96    | 51.1 | 43.7 | 58.4 | 86     | 46.0 | 38.7 | 53.4 | 112    | 56.6 | 49.4 | 63.6 |
| <p>N = número de sujetos con una hoja de síntoma completada<br/>n/% = número/porcentaje de sujetos que reportan el síntoma especificado<br/>95% CI = 95% intervalo de confianza (método exacto para la proporción); LL = límite inferior, UL = límite superior<br/>Adormecimiento Grado 2 = Adormecimiento que interfirió con la actividad normal<br/>Adormecimiento Grado 3 = Adormecimiento que evitó la actividad normal<br/>Irritabilidad Grado 2 = llanto más de lo normal/que interfirió con la actividad normal<br/>Irritabilidad Grado 3 = llanto que no puede ser atenuado/que previene la actividad normal<br/>Pérdida de apetito Grado 2 = come menos de lo normal/interfirió con la actividad normal<br/>Pérdida de apetito Grado 3 = no come en lo absoluto<br/>*Información post-vacunación no disponible para un sujeto en cada grupo</p> |                        |       |      |      |      |        |      |      |      |        |      |      |      |

121

5

10

15

20

25

| Variables de resultado secundario:                                                                                                                                                                                                                            |             |                          |      |        |      |                            |      |        |      |                                |      |        |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------------------|------|--------|------|----------------------------|------|--------|------|--------------------------------|------|--------|------|
| Incidencia de los síntomas locales solicitados (cualquier intensidad, grado 2 ó grado 3 y grado 3) que ocurren en un periodo de cuatro días después de la vacunación de DTaP/DTaP-HBV-IPV (día 0 - DA 3), por dosis y dosis cruzadas - cohorte vacunada total |             |                          |      |        |      |                            |      |        |      |                                |      |        |      |
| Síntoma                                                                                                                                                                                                                                                       | Intensidad  | Grupo de Vacuna Separada |      |        |      | Grupo de Vacuna Escalonada |      |        |      | Grupo de Vacuna de Combinación |      |        |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                               |             | n                        | %    | 95% CI |      | n                          | %    | 95% CI |      | n                              | %    | 95% CI |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                               |             |                          |      | LL     | UL   |                            |      | LL     | UL   |                                |      | LL     | UL   |
|                                                                                                                                                                                                                                                               |             |                          |      |        |      |                            |      |        |      |                                |      |        |      |
| Dosis 1                                                                                                                                                                                                                                                       |             | N=186                    |      |        |      | N=187                      |      |        |      | N=198                          |      |        |      |
| Dolor                                                                                                                                                                                                                                                         | Cualquiera  | 86                       | 46.2 | 38.9   | 53.7 | 72                         | 38.5 | 31.5   | 45.9 | 89                             | 44.9 | 37.9   | 52.2 |
|                                                                                                                                                                                                                                                               | Grado 2 ó 3 | 29                       | 15.6 | 10.7   | 21,6 | 24                         | 12.8 | 8.4    | 18.5 | 38                             | 19.2 | 14.0   | 25.4 |
|                                                                                                                                                                                                                                                               | Grado 3     | 6                        | 3.2  | 1.2    | 6.9  | 8                          | 4.3  | 1.9    | 8.3  | 8                              | 4.0  | 1.8    | 7.8  |
| Enroje-<br>cimiento                                                                                                                                                                                                                                           | Cualquiera  | 76                       | 40.9 | 33.7   | 48.3 | 56                         | 29.9 | 23.5   | 37.1 | 72                             | 36.4 | 29.7   | 43.5 |
|                                                                                                                                                                                                                                                               | Grado 2 ó 3 | 21                       | 11.3 | 7.1    | 16.7 | 17                         | 9.1  | 5.4    | 14.2 | 20                             | 10.1 | 6.3    | 15.2 |
|                                                                                                                                                                                                                                                               | Grado 3     | 3                        | 1.6  | 0.3    | 4.6  | 3                          | 1.6  | 0.3    | 4.6  | 3                              | 1.5  | 0.3    | 4.4  |
| Infla-<br>mación                                                                                                                                                                                                                                              | Cualquiera  | 45                       | 24.2 | 18.2   | 31.0 | 33                         | 17.6 | 12.5   | 23.9 | 43                             | 21.7 | 16.2   | 28.1 |
|                                                                                                                                                                                                                                                               | Grado 2 ó 3 | 17                       | 9.1  | 5.4    | 14.2 | 14                         | 7.5  | 4.2    | 12.2 | 21                             | 10.6 | 6.7    | 15.8 |
|                                                                                                                                                                                                                                                               | Grado 3     | 2                        | 1.1  | 0.1    | 3.8  | 4                          | 2.1  | 0.6    | 5.4  | 8                              | 4.0  | 1.8    | 7.8  |

5

10

15

20

25

| Dosis 2             |             | N=180 |      |      |      | N=183 |      |      |      | N=192 |      |      |      |
|---------------------|-------------|-------|------|------|------|-------|------|------|------|-------|------|------|------|
| Dolor               | Cualquiera  | 72    | 40.0 | 32.8 | 47.6 | 61    | 33.3 | 26.6 | 40.7 | 84    | 43.8 | 36.6 | 51.1 |
|                     | Grado 2 ó 3 | 29    | 16.1 | 11.1 | 22.3 | 16    | 8.7  | 5.1  | 13.8 | 34    | 17.7 | 12.6 | 23,9 |
|                     | Grado 3     | 2     | 1,1  | 0.1  | 4.0  | 4     | 2.2  | 0.6  | 5.5  | 8     | 4.2  | 1.8  | 8.0  |
| Enroje-<br>cimiento | Cualquiera  | 83    | 46.1 | 38.7 | 53.7 | 68    | 37.2 | 30.1 | 44.6 | 97    | 50.5 | 43.2 | 57.8 |
|                     | Grado 2 ó 3 | 28    | 15.6 | 10.6 | 21.7 | 26    | 14.2 | 9.5  | 20.1 | 43    | 22.4 | 16.7 | 29.0 |
|                     | Grado 3     | 6     | 3.3  | 1.2  | 7.1  | 12    | 6.6  | 3.4  | 11.2 | 10    | 5.2  | 2.5  | 9.4  |
| Infla-<br>ción      | Cualquiera  | 48    | 26.7 | 20.4 | 33.8 | 45    | 24.6 | 18.5 | 31.5 | 69    | 35.9 | 29.2 | 43.2 |
|                     | Grado 2 ó 3 | 10    | 5.6  | 2.7  | 10.0 | 17    | 9.3  | 5.5  | 14.5 | 28    | 14.6 | 9,9  | 20.4 |
|                     | Grado 3     | 3     | 1.7  | 0.3  | 4.8  | 5     | 2.7  | 0.9  | 6.3  | 6     | 3.1  | 1.2  | 6.7  |
| Dosis 3             |             | N=177 |      |      |      | N=180 |      |      |      | N=191 |      |      |      |
| Dolor               | Cualquiera  | 71    | 40.1 | 32.8 | 47.7 | 54    | 30.0 | 23.4 | 37.3 | 77    | 40.3 | 33.3 | 47.6 |
|                     | Grado 2 ó 3 | 25    | 14.1 | 9.4  | 20.1 | 8     | 4.4  | 1.9  | 8.6  | 33    | 17.3 | 12.2 | 23.4 |
|                     | Grado 3     | 1     | 0.6  | 0.0  | 3.1  | 2     | 1.1  | 0.1  | 4.0  | 6     | 3.1  | 1,2  | 6.7  |
| Enroje-<br>cimiento | Cualquiera  | 89    | 50.3 | 42.7 | 57.9 | 77    | 42.8 | 35.4 | 50.4 | 96    | 50.3 | 43.0 | 57.6 |
|                     | Grado 2 ó 3 | 37    | 20.9 | 15.2 | 27.6 | 27    | 15.0 | 10.1 | 21.1 | 31    | 16.2 | 11.3 | 22.2 |
|                     | Grado 3     | 9     | 5.1  | 2.4  | 9.4  | 10    | 5.6  | 2.7  | 10.0 | 6     | 3.1  | 1.2  | 6.7  |
| Infla-<br>ción      | Cualquiera  | 55    | 31.1 | 24.3 | 38.5 | 45    | 25.0 | 18.9 | 32.0 | 70    | 36.6 | 29.8 | 43.9 |
|                     | Grado 2 ó 3 | 13    | 7.3  | 4.0  | 12.2 | 13    | 7.2  | 3.9  | 12.0 | 22    | 11.5 | 7.4  | 16.9 |
|                     | Grado 3     | 1     | 0.6  | 0.0  | 3.1  | 2     | 1.1  | 0.1  | 4.0  | 5     | 2.6  | 0.9  | 6.0  |

5

10

15

20

25

| Dosis<br>cruzadas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |             | N=188 |      |      |      | N=187* |      |      |      | N=198* |      |      |      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------|------|------|------|--------|------|------|------|--------|------|------|------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |             |       |      |      |      |        |      |      |      |        |      |      |      |
| Dolor                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Cualquiera  | 118   | 62.8 | 55.4 | 69.7 | 98     | 52.4 | 45.0 | 59.7 | 126    | 63.6 | 56.5 | 70.3 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Grado 2 ó 3 | 58    | 30.9 | 24.3 | 38.0 | 35     | 18.7 | 13.4 | 25.1 | 73     | 36.9 | 30.1 | 44.0 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Grado 3     | 8     | 4.3  | 1.9  | 8.2  | 10     | 5.3  | 2.6  | 9.6  | 18     | 9.1  | 5.5  | 14.0 |
| Enroje-<br>cimiento                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Cualquiera  | 125   | 66.5 | 59.3 | 73.2 | 102    | 54.5 | 47.1 | 61.8 | 135    | 68.2 | 61.2 | 74.6 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Grado 2 ó 3 | 62    | 33.0 | 26.3 | 40.2 | 48     | 25.7 | 19.6 | 32.6 | 67     | 33.8 | 27.3 | 40.9 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Grado 3     | 14    | 7.4  | 4.1  | 12.2 | 20     | 10.7 | 6.7  | 16.0 | 16     | 8.1  | 4.7  | 12.8 |
| Infla-<br>ción                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Cualquiera  | 84    | 44.7 | 37.4 | 52.1 | 70     | 37.4 | 30.5 | 44.8 | 102    | 51.5 | 44.3 | 58.7 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Grado 2 ó 3 | 29    | 15.4 | 10.6 | 21.4 | 30     | 16.0 | 11.1 | 22.1 | 45     | 22.7 | 17.1 | 29.2 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Grado 3     | 5     | 2.7  | 0.9  | 6.1  | 9      | 4.8  | 2.2  | 8.9  | 16     | 8.1  | 4.7  | 12.8 |
| <p>N = número de sujetos con una hoja de síntoma completada</p> <p>n/% = número/porcentaje de sujetos que reportan el síntoma especificado</p> <p>95% CI = 95% intervalo de confianza (método exacto para la proporción); LL = límite inferior, UL = límite superior</p> <p>Dolor Grado 2 = gritó/protesta al tacto</p> <p>Dolor Grado 3 = llanto al mover el miembro/dolor espontáneo</p> <p>Enrojecimiento o Inflamación Grado 2 = &gt; 5 mm a ≥ 20 mm Enrojecimiento o Inflamación Grado 3 = &gt; 20 mm</p> <p>*Información post-vacunación no disponible para un sujeto en cada grupo</p> |             |       |      |      |      |        |      |      |      |        |      |      |      |



5

10

15

20

25

| Dosis 3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                           | N = 177 |      |      |      | N = 180 |      |      |      | N = 191 |      |      |      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|---------|------|------|------|---------|------|------|------|---------|------|------|------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Cualquier medicación      | 73      | 41.2 | 33.9 | 48.9 | 57      | 31.7 | 24.9 | 39.0 | 89      | 46.6 | 39.4 | 53.9 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Cualquier Antibiótico     | 4       | 2.3  | 0.6  | 5.7  | 9       | 5.0  | 2.3  | 9.3  | 6       | 3.1  | 1.2  | 6.7  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Cualquier Antipirético    | 66      | 37.3 | 30.1 | 44.9 | 43      | 23.9 | 17.9 | 30.8 | 75      | 39.3 | 32.3 | 46.6 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Antipirético Profiláctico | 5       | 2.8  | 0.9  | 6.5  | 2       | 1.1  | 0.1  | 4.0  | 5       | 2.6  | 0.9  | 6.0  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Antipirético para fiebre  | 26      | 14.7 | 9.8  | 20.8 | 11      | 6.1  | 3.1  | 10.7 | 37      | 19.4 | 14.0 | 25.7 |
| Dosis cruzadas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                           | N = 188 |      |      |      | N=187*  |      |      |      | N= 198* |      |      |      |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Cualquier medicación      | 136     | 72.3 | 65.4 | 78.6 | 123     | 65.8 | 58.5 | 72.5 | 156     | 78.8 | 72.4 | 84,3 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Cualquier Antibiótico     | 6       | 3.2  | 1.2  | 6.8  | 11      | 5.9  | 3.0  | 10.3 | 9       | 4.5  | 2.1  | 8.5  |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Cualquier Antipirético    | 129     | 68.6 | 61.5 | 75.2 | 104     | 55.6 | 48.2 | 62.9 | 145     | 73.2 | 66.5 | 79.3 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Antipirético Profiláctico | 34      | 18.1 | 12.9 | 24.3 | 17      | 9.1  | 5,4  | 14.2 | 25      | 12.6 | 8.3  | 18.1 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Antipirético para fiebre  | 53      | 28.2 | 21.9 | 35.2 | 46      | 24.6 | 18.6 | 31.4 | 89      | 44.9 | 37.9 | 52.2 |
| N = número de sujetos con una hoja de síntoma completada<br>n/% = número/porcentaje de sujetos que recibieron la medicación concomitante<br>95% CI = 95% intervalo de confianza (método exacto para la proporción); LL = límite inferior, UL = límite superior<br>*Información post-vacunación no disponible para un sujeto en cada grupo |                           |         |      |      |      |         |      |      |      |         |      |      |      |

126



5

10

15

20

25

| <b>Resultado de seguridad:</b>                                                                                                                                                        |                                   |        |                                       |        |                                          |        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|--------|---------------------------------------|--------|------------------------------------------|--------|
| Número (%) de sujetos con eventos adversos no solicitados que ocurren durante la fase activa de la dosis del día 1 al día 30 después de la última vacunación (cohorte vacunada total) |                                   |        |                                       |        |                                          |        |
| Más de 10 eventos adversos no solicitados frecuentes                                                                                                                                  | Grupo de Vacuna Separado<br>N=188 |        | Grupo de Vacuna Escalonado<br>N= 187* |        | Grupo de Vacuna de Combinación<br>N=198* |        |
| Sujetos con cualquier AE(s), n(%)                                                                                                                                                     | 154                               | (81.9) | 164                                   | (87.7) | 165                                      | (83.3) |
| Infección del tracto respiratorio superior                                                                                                                                            | 78                                | (41.5) | 85                                    | (45.5) | 84                                       | (42.4) |
| Medio de otitis                                                                                                                                                                       | 46                                | (24.5) | 48                                    | (25.7) | 56                                       | (28.3) |
| rinitis                                                                                                                                                                               | 38                                | (20.2) | 30                                    | (16.0) | 30                                       | (15.2) |
| Reacción del sitio de inyección                                                                                                                                                       | 24                                | (12.8) | 33                                    | (17.6) | 27                                       | (13.6) |
| infección viral                                                                                                                                                                       | 14                                | (7.4)  | 24                                    | (12.8) | 24                                       | (12.1) |
| Dolor de dientes                                                                                                                                                                      | 25                                | (13.3) | 21                                    | (11.2) | 14                                       | (7.1)  |
| Diarrea                                                                                                                                                                               | 23                                | (12.2) | 15                                    | (8.0)  | 13                                       | (6.6)  |
| Vomito                                                                                                                                                                                | 14                                | (7.4)  | 21                                    | (11.2) | 10                                       | (5.1)  |
| Conjuntivitis                                                                                                                                                                         | 10                                | (5.3)  | 20                                    | (10.7) | 11                                       | (5.6)  |
| Tos                                                                                                                                                                                   | 12                                | (6.4)  | 13                                    | (7.0)  | 15                                       | (7.6)  |
| Candidiasis                                                                                                                                                                           | 9                                 | (4.8)  | 14                                    | (7.5)  | 12                                       | (6.1)  |
| Constipación                                                                                                                                                                          | 9                                 | (4.8)  | 12                                    | (6.4)  | 12                                       | (6.1)  |
| Fiebre                                                                                                                                                                                | 10                                | (5.3)  | 14                                    | (7.5)  | 9                                        | (4.5)  |
| Dermatitis de contacto                                                                                                                                                                | 4                                 | (2.1)  | 17                                    | (9.1)  | 10                                       | (5.1)  |
| Salpullido                                                                                                                                                                            | 10                                | (5.3)  | 10                                    | (5.3)  | 10                                       | (5.1)  |
| Neumonía                                                                                                                                                                              | 7                                 | (3.7)  | 5                                     | (2.7)  | 14                                       | (7.1)  |
| *Información post-vacunación no disponible para un sujeto en cada grupo                                                                                                               |                                   |        |                                       |        |                                          |        |

128

| <b>Resultado de seguridad:</b>                                                                                                                                                   |                                           |                                               |                                                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Número (%) de sujetos con eventos adversos graves (SAEs) [número de SAE considerados por el investigador que se relacionan a la medicación del estudio] (cohorte vacunada total) |                                           |                                               |                                                  |
| Acontecimientos adversos graves a través de todo el período de estudio que incluye el periodo de examen de seguridad extendido después de la última dosis de vacuna              | Grupo de Vacuna Separada<br>N=188         | Grupo de Vacuna Escalonado<br>N= 187*         | Grupo de Vacuna de Combinación<br>N=198*         |
| Sujetos con cualquier AE(s), n(%)                                                                                                                                                | 9 (4.8) [0]                               | 6 (3.2) [1]                                   | 9 (4.5) [0]                                      |
| Asma                                                                                                                                                                             | 1 (0.5) [0]                               | 0 (0.0) [0]                                   | 1 (0.5) [0]                                      |
| Broncoespasmo                                                                                                                                                                    | 2 (1.1) [0]                               | 0 (0.0) [0]                                   | 0 (0.0) [0]                                      |
| Celulitis                                                                                                                                                                        | 1 (0.5) [0]                               | 0 (0.0) [0]                                   | 0 (0.0) [0]                                      |
| Convulsiones                                                                                                                                                                     | 0 (0.0) [0]                               | 1 (0.5) [0]                                   | 1 (0.5) [0]                                      |
| Deshidratación                                                                                                                                                                   | 1 (0.5) [0]                               | 1 (0.5) [0]                                   | 0 (0.0) [0]                                      |
| Fiebre                                                                                                                                                                           | 2 (1.1) [0]                               | 1 (0.5) [0]                                   | 0 (0.0) [0]                                      |
| Gastroenteritis                                                                                                                                                                  | 2 (1.1) [0]                               | 1 (0.5) [0]                                   | 2 (1.1) [0]                                      |
| Reflujo gastroesofágico                                                                                                                                                          | 0 (0.0) [0]                               | 1 (0.5) [0]                                   | 1 (0.5) [0]                                      |
| Infección viral                                                                                                                                                                  | 0 (0.0) [0]                               | 1 (0.5) [0]                                   | 0 (0.0) [0]                                      |
| neoplasma NOS                                                                                                                                                                    | 0 (0.0) [0]                               | 1 (0.5) [0]                                   | 0 (0.0) [0]                                      |
| Neuropatía                                                                                                                                                                       | 0 (0.0) [0]                               | 1 (0.5) [0]                                   | 0 (0.0) [0]                                      |
| Medio de otitis                                                                                                                                                                  | 1 (0.5) [0]                               | 0 (0.0) [0]                                   | 0 (0.0) [0]                                      |
| Neumonía                                                                                                                                                                         | 3 (1.6) [0]                               | 1 (0.5) [0]                                   | 4 (2.0) [0]                                      |
| Neumonitis                                                                                                                                                                       | 1 (0.5) [0]                               | 0 (0.0) [0]                                   | 0 (0.0) [0]                                      |
| Pielonefritis                                                                                                                                                                    | 0 (0.0) [0]                               | 1 (0.5) [0]                                   | 0 (0.0) [0]                                      |
| Infección del tracto urinario                                                                                                                                                    | 0 (0.0) [0]                               | 0 (0.0) [0]                                   | 1 (0.5) [0]                                      |
| <b>Acontecimientos adversos graves a través de todo el periodo de estudio que incluye el periodo de examen de seguridad extendido después de la última dosis de vacuna</b>       | <b>Grupo de Vacuna Separada<br/>N=188</b> | <b>Grupo de Vacuna Escalonado<br/>N= 187*</b> | <b>Grupo de Vacuna de Combinación<br/>N=198*</b> |
| Sujetos con cualquier AE(s), n(%)                                                                                                                                                | 0 (0.0) [0]                               | 0 (0.0) [0]                                   | 0 (0.0) [0]                                      |
| *Información post-vacunación no disponible para un sujeto en cada grupo                                                                                                          |                                           |                                               |                                                  |

**Conclusión:** Un mes después de la tercera dosis de la vacuna de DTaP-HepB-IPV dada de manera concomitante con Hib y PnC, las concentraciones de anticuerpo promedio geométricas para cada uno de los antígenos de tosferina, y los índices de seroprotección para la difteria, tétanos y virus de polio, mostraron no ser inferiores a los alcanzados después de las vacunas administradas por separado. Los acontecimientos adversos no solicitados fueron descritos en 154 (81.9%) del grupo de vacuna separada, 164 (87.7%) del grupo de vacuna escalonada y 165 (83.3%) del grupo de vacuna combinada, con la mayoría frecuentemente reportado en cada grupo que tuvo una infección del tracto respiratorio superior y medio de otitis. Los acontecimientos adversos graves no fatales fueron reportados en 9 (4.8%) del grupo de vacuna separada, 6 (3.2%) del grupo de vacuna escalonada y 9 (4.5%) del grupo de vacuna combinada. Pulmonía, broncoespasmo, fiebre y gastroenteritis no fueron los únicos acontecimientos adversos graves no fatales reportados en más de un sujeto en el grupo de vacuna separada. Ningún acontecimiento adverso grave no fatal fue reportado en más de un sujeto en el grupo de vacuna escalonada y la neumonía y la gastroenteritis no fueron los únicos acontecimientos reportados por más de un sujeto en el grupo de vacuna combinado. No se reportó ninguna muerte.

***Referencias (cuyos contenidos son incorporados en la presente por referencia)***

- [1] Armand y col. (1982) J. Biol. Stand. 10: 335-339
- [2] Cadoz y col. (1985) Vaccine 3: 340-342.

- [3] MMWR (1997) 46(RR-5) 1-10.
- [4] Baklaic y col. (1983) Infect. Immun. 42: 599-604.
- [5] Jones (2001 ) Curr Opin Investig Drugs 2: 47-49.
- [6] Costantino y col. (1992) Vaccine 10: 691-8.
- 5 [7] Lieberman y col. (1996) JAMS 275: 1499-503.
- [8] WO2005/000345.
- [9] WO02/058737.
- [10] WO03/007985
- [11] Rennels y col. (2002) Pediatr Infect Dis J21: 978-979.
- 10 [12] WO2004/013400.
- [13] Campbell y col. (2002) J InfectDis 186: 1848-1851.
- [14] Herzenberg y col. (1980) Nature 285: 664-667.
- [15] Schutze y col. (1985) J Immunol 135: 2319-2322.
- [16] Dagan y col. (1998) Infect Immun 66: 2093-2098.
- 15 [17] Barington y col. (1994) Infect Immun 62: 9-14.
- [18] Di John y col. (1989) Lancet 2(8677): 1415-8.
- [19] Granoff y col. (1993) Vaccine Suppl: S46-51.
- [20] Granoff y col. (1994) JAMA 272: 1116-1121.
- [21] Barington y col. (1993) Infect Immun 61: 432-438.
- 20 [22] Patente Australiana 748716 (otorgada a partir de  
WO98/51339).
- [23] Olander y col. (2001) Vaccine 20 336-341.
- [24] Burrage y col. (2002) Infect Immun 70: 4946-4954.
- [25] Peeters y col. (1999) Infect Immun 59: 3504-3510.
- 25 [26] Hoppenbrouwers y col. (1999) Vaccine 17: 2588-98.

- [27] WO02/00249.
- [28] WO00/56360.
- [29] Reddin y col. (2001) FEMS Immunol Med Microbiol 31: 153-162.
- 5 [30] Podda y col. (1991) Vaccine 9: 741-745.
- [31] Darkes & Plosker (2002) Paediatr Drugs 4: 609-630.
- [32] Vaccines, (eds. Plotkin & Orenstein). 4th edition, 2004, ISBN: 0-7216-9688-0.
- [33] Del Guidice y col. (1998) Molecular Aspects of Medicine  
10 19: 1-70.
- [34] Anonymous (Jan 2002) Research Disclosure, 453077.
- [35] Anderson (1983) Infect Immun 39(1): 233-238.
- [36] Anderson y col. (1985) J Clin Invest 76(1): 52-59.
- [37] Ramsay y col. (2001) Lancet 357 (9251): 195-196.
- 15 [38] Lindberg (1999) Vaccine 17 Suppl 2: S28-36.
- [39] Buttery & Moxon (2000) JR Coll Physicians Lond 34: 163-168.
- [40] Ahmad & Chapnick (1999) Infect Dis Clin North Am 13: 113-33, vii.
- 20 [41] Goldblatt (1998) J. Med. Microbiol. 47: 563-567.
- [42] Patente Europea 0477508.
- [43] Patente Norteamericana No. 5,306,492.
- [44] WO98/42721.
- [45] Dick y col. in Conjugate Vaccines (eds. Cruse y col.)  
25 Karger, Basel, 1989, 10: 48-114.

[46] Hermanson Bioconjugate Techniques, Academic Press, San Diego (1996) ISBN: 0123423368.

[47] WO03/080678.

[48] Glode y col. (1979) J Infect Dis 139: 52-56.

5 [49] WO94/05325; Patente Norteamericana No. 5,425,946.

[50] Solicitud de Patente del Reino Unido 0323103.2.

[52] WO96/40242

[53] Lees y col. (1996) Vaccine 14: 190-198.

[54] WO95/08348.

10 [55] Patente Norteamericana No. 4,882,317

[56] Patente Norteamericana No. 4,695,624

[57] Porro y col. (1985) Mol Immunol 22: 907-919.

[58] EP-A-0208375

[59] WO00/10599

15 [60] Gever y col. Med. Microbiol. Immunol, 165: 171-288 (1979).

[61] Patente Norteamericana No. 4,057,685.

[62] Patentes Norteamericanas Nos. 4,673,574; 4,761,283; 4,808,700.

20 [63] Patente Norteamericana No. 4,459,286.

[64] Patente Norteamericana No. 4,965,338

[65] Patente Norteamericana No. 4,663,160.

[66] Patente Norteamericana No. 4,761,283

[67] Patente Norteamericana No. 4.356,170

25 [68] Balmer & Borrow (2004) Expert Rev Vaccines 3: 77-87.

- [69] Watson (2000) *Pediatr infect Dis J* 19: 331-332.
- [70] Rubin (2000) *Pediatr Clin North Am* 47: 269-285, v.
- [71] Jedrzejewski (2001) *Microbiol Mol Biol Rev* 65: 187-207.
- [72] Zielen y col. (2000) *infect. Immun.* 68: 1435-1440.
- 5 [73] Kanra y col. (1999) *The Turkish Journal of Paediatrics*  
42: 421-427.
- [74] Ravenscroft y col. (2000) *Dev Biol (Basel)* 103: 35-47.
- [75] WO97/00697.
- [76] WO96/37222; Patente Norteamericana No. 6,333,036.
- 10 [77] WO2004/032958
- [78] Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice  
of Pharmacy 20th ed. ISBN: 0683306472.
- [79] Almeida & Alpar (1996) *J. Drug Targeting* 3: 455-467.
- [80] Agarwal & Mishra (1999) *Indian JExp Biol* 37-6-16.
- 15 [81] Vaccine Design(1995) eds. Powell & Newman ISBN.  
030644867X Plenum.
- [82] WO00/23105.
- [83] WO90/14837
- [84] Patente Norteamericana No. 5,057,540.
- 20 [85] WO96/33739.
- [86] EP-A-0109942.
- [87] WO96/11711
- [88] WO00/07621.
- [89] Barr y col. (1998) *Advanced Drug Delivery Reviews* 32:  
25 247-271.

[90] Sjolanderet y col. (1998) Advanced Drug Delivery Reviews 32: 321-338

[91] Nilkura y col. (2002) Virology 293: 273-280

[92] Lenz y col. (2001) J Immunol 166: 5346-5355.

5 [93] Pinto y col. (2003) J Infect Dis 188: 327-338.

[94] Gerber y col. (2001) Virol 75 4752-4760

[95] WO03/024480

[96] WO03/024481

[97] Glucketal. (2002) Vaccine20: B10-B16.

10 [98] EP-A-0689454.

[99] Johnson y col. (1999) BioorgMed Chem Lett 9: 2273-2278.

[100] Evans y col. (2003) Expert Rev vaccines 2: 219-229.

[101] Meraldi y col. (2003) Vaccine 21: 2485-2491

15 [102] Pajak y col. (2003) Vaccine 21: 836-842.

[103] Kandimalla y col. (2003) Nucleic Acids Research 31: 2393-2400.

[104] WO02/26757.

[105] WO99/62923.

20 [106] Krieg (2003) Nature Medicine 9: 831-835.

[107] McCluskie y col. (2002) FEMS Immunology and Medical Microbiology 32: 179-185.

[108] WO98/40100.

[109] Patente Norteamericana No. 6,207,646.

25 [110] Patente Norteamericana No. 6,239,116.

[111] Patente Norteamericana No. 6,429,199.

[112] Kandimalla y col. (2003) Biochemical Society Transactions 31 (part 3): 654-658.

[113] Blackwell y col. (2003) J Immunol 170: 4061-4068.

5 [114] Krieg (2002) Trends Immunol 23: 64-65.

[115] WO01/95935.

[116] Kandimalla y col. (2003) BBRC 306: 948-953.

[117] Bhagat y col. (2003) BBRC 300: 853-861.

[118] WO03/035836.

10 [119] WO95/1721 1.

[120] WO98/42375.

[121] Beignon y col. (2002) Infect Immun 70: 3012-3019.

[122] Pizza y col. (2001) Vaccine 19: 2534-2541.

[123] Pizza y col. (2000) Int J Med Microbiol 290: 455-461.

15 [124] Scharton-Kersten y col. (2000) Infect Immun 68: 5306-5313.

[125] Ryan y col. (1999) Infect Immun 67: 6270-6280.

[126] Partidos y col. (1999) Immunol Lett 67: 209-216.

[127] Peppoloni y col. (2003) Expert Rev Vaccines 2: 285-

20 293.

[128] Pine y col. (2002) J Control Release 85: 263-270.

[129] Domenighini y col. (1995) Mol Microbiol 15: 1165-1167.

[130] WO99/40936.

25 [131] WO99/44636.

- [132] Singh y col. (2001) J Cont Release 70: 267-276.
- [133] WO99/27960.
- [134] Patente Norteamericana No. 6,090,406
- [135] Patente Norteamericana No. 5,916,588
- 5 [136] EP-A-0626169.
- [137] WO99/52549.
- [138] WO01/21207
- [139] WO01/21 152.
- [140] Andrianov y col. (1998) Biomaterials 19: 109-115.
- 10 [141] Payne y col. (1998) Adv Drug Delivery Review 31:  
185-196.
- [142] Stanley (2002) Clin Exp Dermatol 27: 571-577.
- [143] Jones (2003) Curr Opin Investig Drugs 4: 214-218.
- [144] WO04/60308
- 15 [145] WO04/64759.
- [146] WO99/11241.
- [147] WO94/00153.
- [148] WO98/57659.
- [149] Solicitudes de Patente Europea 0835318, 0735898 y  
20 0761231.
- [150] WO03/009869.
- [151] WO2004/110480.
- [152] Olander y col. (2002) Vaccine 20: 336-41.
- [153] McVernon y col. (2003) Vaccine 21: 2573-9.
- 25 [154] Chippaux y col. (2004) Vaccine 22: 3303-11.

## REIVINDICACIONES

1. Un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano una composición que comprende por lo menos dos de: (a) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo A y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo C y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; (c) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo W135 y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; y (d) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo Y e (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo, en donde se ha pre-inmunizado al paciente con (a) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo y/o (b) un conjugado de (i) de un sacárido capsular de un organismo distinto de *N. meningitidis* y de (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo.

2. Un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano una composición que comprende por lo menos dos de: (a) un conjugado (i) de sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo A y de (ii) un toxoide de tétanos; (b) un conjugado de

(i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo C y de  
(ii) un toxoide de tétanos; (c) un conjugado de (i) un sacárido  
capsular de *N. meningitidis* del serogrupo W135 y de (ii) un  
toxoide de tétanos; y (d) un conjugado de (i) un sacárido capsular  
5 de *N. meningitidis* del serogrupo Y y de (ii) un toxoide de tétanos,  
en donde se ha pre-inmunizado al paciente con (a) un toxoide de  
tétanos y/o (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular de un  
organismo distinto de *N. meningitidis* y de (ii) un toxoide de  
tétanos.

10           3.   El uso de por lo menos dos de: (a) un conjugado de (i)  
un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo A y de (ii)  
un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; (b) un conjugado  
de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo C y  
de (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; (c) un  
15 conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del  
serogrupo W135 y de (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del  
mismo; y (d) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N.*  
*meningitidis* del serogrupo Y y de (ii) un toxoide de tétanos o un  
derivado del mismo, en la fabricación de un medicamento para  
20 inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada  
por *Neisseria meningitidis*, en donde se ha pre-inmunizado al  
paciente con (a) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo  
y/o (b) un conjugado (i) de un sacárido capsular de un organismo  
distinto de *N. meningitidis* y de (ii) un toxoide de tétanos o un  
25 derivado del mismo.

4. El uso de por lo menos dos de: (a) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo A y de (ii) un toxoide de tétanos; (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo C y de (ii) un toxoide de tétanos; (c) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo W135 y de (ii) un toxoide de tétanos; y (d) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo Y y de (ii) un toxoide de tétanos, en la fabricación de un medicamento para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, en donde se ha pre-inmunizado al paciente con (a) un toxoide de tétanos y/o (b) un conjugado (i) de un sacárido capsular de un organismo distinto de *N. meningitidis* y de (ii) un toxoide de tétanos.

5. El método de la reivindicación 1 ó 2, en donde la composición comprende (a) y (b), (b) y (d), o los cuatro de (a), (b), (c) y (d).

6. El uso de la reivindicación 3 ó 4, en donde el uso es de (a) y (b), (b) y (d), o de todos los cuatro de (a), (b), (c) y (d).

7. El método o uso de cualquier reivindicación anterior, en donde el paciente ha sido pre-inmunizado con una vacuna que comprende un toxoide de tétanos.

8. El método o uso de cualquier reivindicación anterior, en donde el paciente ha sido pre-inmunizado con una vacuna que comprende un conjugado de Hib.

9. El método o uso de cualquier reivindicación anterior,

en donde el paciente ha sido pre-inmunizado con una vacuna que comprende por lo menos un conjugado neumocócico.

10. El método o uso de cualquier reivindicación anterior, en donde el paciente fue pre-inmunizados por lo menos 0.5, 1, 2,  
5 4 ó 6 meses antes del método o uso.

11. El método o uso de la reivindicación 10, en donde se ha pre-inmunizaron al paciente por lo menos 8 años antes del método o uso.

12. El método o uso de cualquier reivindicación anterior,  
10 en donde la pre-inmunización ocurrió en un periodo de 1 año desde el nacimiento del paciente.

13. El método o uso de cualquier reivindicación anterior, en donde los sacáridos en los conjugados meningocócicos (a) a (d) son más cortos que los sacáridos capsulares nativos  
15 observados en los meningococos.

14. El método o uso de cualquier reivindicación anterior, en donde los conjugados meningocócicos comprenden un portador de toxoide de tétanos y un enlazante de ácido adípico.

15. El método o uso de la reivindicación 14, que  
20 comprende no más de 50 µg de portador de toxoide de tétanos.

16. El método o uso de cualquier reivindicación anterior, en donde la composición o el medicamento adicionalmente comprende un sacárido capsular conjugado de *Streptococcus pneumoniae*.

25 17. El método o uso de cualquier reivindicación anterior,

en donde la composición o el medicamento adicionalmente comprende un sacárido capsular conjugado de *H. influenzae* tipo B.

18. El método o uso de cualquier reivindicación anterior,  
5 en donde la composición o el medicamento adicionalmente comprende un antígeno de proteína del serogrupo B de *Neisseria meningitidis*.

19. El método o uso de cualquier reivindicación anterior,  
10 en donde la composición o medicamento incluye un adyuvante de hidróxido de aluminio y/o un adyuvante de fosfato de aluminio.

20. El método o uso de cualquier reivindicación anterior,  
en donde la enfermedad causada por *Neisseria meningitidis* es meningitis meningocócica.

21. El método o uso de las reivindicaciones 1-6, en donde:  
15 se ha pre-inmunizado al paciente, por lo menos cinco años antes del método o uso, con una vacuna que comprende un toxoide de tétanos; los conjugados meningocócicos comprenden un portador de toxoide de tétanos y, opcionalmente, un enlazante de ácido adípico; los conjugados meningocócicos están presentes a 2-15  
20 µg/ml (medidos como sacárido meningocócico) por serogrupo, la relación de peso de sacárido:portador para por lo menos un conjugado es de aproximadamente 1:3; y el medicamento incluye 20-50 µg/ml de toxoide de tétanos.

22. Un método para inmunizar a un paciente humano  
25 contra una enfermedad causada por *Streptococcus pneumoniae*,

que comprende la etapa de administrar al paciente humano una composición que comprende por lo menos siete, diez, once, trece o catorce conjugados de diferentes serotipos de sacárido capsular de neumococo, por lo menos uno de los cuales está conjugado a un toxoide de difteria o CRM197 o un derivado del mismo, en donde se ha pre-inmunizado al paciente con (a) un toxoide de difteria o un derivado del mismo y/o (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular de un organismo distinto del neumococo y de (ii) un toxoide de difteria o CRM197 o un derivado del mismo.

23. Un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Streptococcus pneumoniae*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano una composición que comprende por lo menos siete, diez, once, trece o catorce conjugados de diferentes serotipos de sacárido capsular de neumococo, por lo menos uno de los cuales está conjugado al toxoide de tétanos o un derivado del mismo, en donde se ha pre-inmunizado al paciente con (a) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo y/o (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular de un organismo distinto del neumococo y de (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo.

24. Un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Streptococcus pneumoniae*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano una composición que comprende por lo menos siete, diez, once, trece o catorce conjugados de diferentes serotipos de sacárido capsular

de neumococo, por lo menos uno de ellos se conjuga al toxoide de tétanos o un derivado del mismo y por lo menos uno de ellos se conjuga al toxoide de difteria o CRM197 o un derivado del mismo, en donde se ha pre-inmunizado al paciente con (a) un  
5 toxoide de tétanos o un derivado del mismo y/o (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular de un organismo distinto del neumococo y de (ii) un toxoide de tétanos o derivado del mismo y (c) un toxoide de difteria o un derivado del mismo y/o (d) un conjugado de (i) un sacárido capsular de un organismo distinto  
10 del neumococo y de (ii) un toxoide de difteria o CRM197 o un derivado del mismo.

25. El uso de por lo menos siete, diez, once, trece o catorce conjugados de diferentes serotipos de sacárido capsular de neumococo, por lo menos uno de ellos está conjugado a un  
15 toxoide de difteria o CRM197 o un derivado del mismo, en la fabricación de un medicamento para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por el neumococo, en donde se ha pre-inmunizado al paciente con (a) un toxoide de difteria o un derivado del mismo y/o (b) un conjugado de (i) un  
20 sacárido capsular de un organismo distinto del neumococo y de (ii) un toxoide de difteria o CRM197 o un derivado del mismo.

26. El uso de por lo menos siete, diez, once, trece o catorce conjugados de diferentes serotipos de sacárido capsular de neumococo, por lo menos uno de ellos está conjugado a un  
25 toxoide de tétanos o un derivado del mismo, en la fabricación de

un medicamento para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por el neumococo, en donde se ha pre-inmunizado al paciente con (a) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo y/o (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular de un organismo distinto del neumococo y de (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo.

27. El uso de por lo menos siete, diez, once, trece o catorce conjugados de diferentes serotipos de sacárido capsular de neumococo, por lo menos uno de ellos se conjuga al toxoide de tétanos o a un derivado del mismo y por lo menos uno de ellos se conjuga a un toxoide de difteria o CRM 197 o un derivado del mismo, en la fabricación de un medicamento para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por el neumococo, en donde el paciente se ha pre-inmunizado con (a) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo y/o (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular de un organismo distinto del neumococo y de (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo y (c) un toxoide de difteria o un derivado del mismo y/o (d) un conjugado de (i) un sacárido capsular de un organismo distinto del neumococo y de (ii) un toxoide de difteria o un CRM197 o un derivado del mismo.

28. El método o uso de las reivindicaciones 22-27, en donde un conjugado de sacárido capsular meningocócico no está presente en la composición o el medicamento.

29. El método o uso de las reivindicaciones 22-28, en

donde se ha pre-inmunizado al paciente con una vacuna que comprende un toxoide de difteria.

30. El método o uso de las reivindicaciones 22-29, en donde se ha pre-inmunizado al paciente con una vacuna que  
5 comprende un toxoide de tétanos.

31. El método o uso de las reivindicaciones 22-30, en donde se ha pre-inmunizado al paciente con una vacuna que comprende un conjugado de Hib.

32. El método o uso de las reivindicaciones 22-31, en  
10 donde se pre-inmunizado al paciente con una vacuna que comprende por lo menos un conjugado de sacárido capsular meningocócico.

33. El método o uso de las reivindicaciones 22-32, en donde se ha pre-inmunizaron al paciente por lo menos 0.5, 1, 2, 4  
15 ó 6 meses antes del método o uso.

34. El método o uso de la reivindicación 33, en donde se ha pre-inmunizaron al paciente por lo menos 8 años antes del método o uso.

35. El método o uso de las reivindicaciones 22-34, en  
20 donde la pre-inmunización ocurrió en un periodo de 1 año desde el nacimiento del paciente.

36. El método o uso de las reivindicaciones 22-35, en donde por lo menos uno de los sacáridos en los conjugados neumocócicos es más corto que los sacáridos capsulares nativos  
25 observados en el neumococo.

37. El método o uso de las reivindicaciones 22-36, en donde por lo menos uno de los conjugados neumocócicos comprende un portador de toxoide de difteria y, opcionalmente, un enlazante de ácido adípico.

5        38. El método o uso de las reivindicaciones 22-37, en donde por lo menos uno de los conjugados neumocócicos comprende un portador de CRM197 y, opcionalmente, un enlazante de ácido adípico.

10       39. El método o uso de las reivindicaciones 22-38, en donde por lo menos uno de los conjugados neumocócicos comprende un portador y, opcionalmente, un enlace de toxoide de tétanos y opcionalmente un enlazante de ácido adípico.

15       40. El método o uso de la reivindicación 37 ó 38, que comprende no más de 60 µg de toxoide de difteria o portador de CRM197.

41. El método o uso de la reivindicación 39, que comprende no más de 50 µg del portador de toxoide de tétanos.

20       42. El método o uso de las reivindicaciones 22-41, en donde la composición o medicamento adicionalmente comprende un sacárido capsular conjugado de *H. influenzae* tipo B.

43. El método o uso de las reivindicaciones 22-42, en donde la composición o el medicamento adicionalmente comprende un antígeno de proteína del serogrupo B de *Neisseria meningitidis*.

25       44. El método o uso de las reivindicaciones 22-43, en

donde la composición o el medicamento incluye un adyuvante de hidróxido de aluminio y/o un adyuvante de fosfato de aluminio.

45. Un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*,  
5 *Bordetetta pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae* y *Streptococcus pneumoniae*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano las siguientes vacunas con el siguiente esquema de administración:

|    |       |          |          |          |          |
|----|-------|----------|----------|----------|----------|
| 10 |       | Visita 1 | Visita 2 | Visita 3 | Visita 4 |
|    | DTP   | X        |          | X        |          |
|    | Strep |          | X        |          | X        |
|    | MenC  |          | X        |          | X        |

en donde la visita al médico practicante toda ocurre en los  
15 primeros 8 meses de vida, en donde hay por lo menos 2 semanas entre cada visita consecutiva.

en donde DTP comprende DT, TT, y los antígenos de tosferina célula integral (Pw) o sin células (Pa),

en donde Strep es una vacuna de conjugado de sacárido capsular neumocócico polivalente que comprende por lo menos 7,  
20 10, 11, 13 ó 14 serotipos conjugados,

en donde MenC comprende un sacárido capsular conjugado del serogrupo C de *N. meningitidis*,

en donde por lo menos un sacárido conjugado en cada una  
25 de las vacunas de Strep y MenC se conjuga a DT o CRM197, o

por lo menos un sacárido conjugado en cada una de las vacunas de Strep y MenC se conjuga a TT.

46. Un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*,  
5 *Bordetetta pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae* y *Streptococcus pneumoniae*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano las siguientes vacunas con el siguiente esquema de administración:

|        |          |          |          |                    |
|--------|----------|----------|----------|--------------------|
|        | Visita 1 | Visita 2 | Visita 3 | Visita 4           |
| 10 DTP | X        | X        | X        |                    |
| Strep  | X        |          | X        |                    |
| MenC   |          | X        |          | Opcionalmente<br>X |

15 en donde la visita al médico practicante toda ocurre en los primeros 8 meses de vida, en donde hay por lo menos 2 semanas entre cada visita consecutiva.

en donde DTP comprende DT, TT, y los antígenos de tosferina célula integral (Pw) o sin células (Pa),

20 en donde Strep es una vacuna de conjugado de sacárido capsular neumocócico polivalente que comprende por lo menos 7, 10, 11, 13 ó 14 serotipos conjugados,

en donde MenC comprende un sacárido capsular conjugado del serogrupo C de *N. meningitidis*,

25 en donde por lo menos un sacárido conjugado en cada una

de las vacunas de Strep y MenC se conjuga a DT o CRM197, o por lo menos un sacárido conjugado en cada una de las vacunas de Strep y MenC se conjuga a TT.

47. Un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, *Bordetetta pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae* y *Streptococcus pneumoniae*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano las siguientes vacunas con el siguiente esquema de administración:

|       | Visita1 | Visita 2 | Visita 3 |
|-------|---------|----------|----------|
| DTP   | X       | X        | X        |
| Strep | X       | X        |          |
| MenC  |         | X        | X        |

en donde la visita al médico practicante toda ocurre en los primeros 8 meses de vida,

en donde hay por lo menos 2 semanas entre cada visita consecutiva.

en donde DTP comprende DT, TT, y los antígenos de tosferina célula integral (Pw) o sin células (Pa),

en donde Strep es una vacuna de conjugado de sacárido capsular neumocócico multivalente que comprende por lo menos 7, 10, 11, 13 ó 14 serotipos conjugados,

en donde MenC comprende un sacárido capsular conjugado del serogrupo C de *N. meningitidis*,

en donde por lo menos un sacárido conjugado en cada una

de las vacunas de Strep y MenC se conjuga a DT o CRM197, o por lo menos un sacárido conjugado en cada una de las vacunas de Strep y MenC se conjuga a TT.

5 48. El método de las reivindicaciones 45-47, en donde las visitas 1, 2 y 3 ocurren a los 2, 3, 4 meses de edad; 3, 4, 5 meses de edad; 2, 4, 6 meses de edad; o 6, 10, 14 semanas de edad.

49. El método de las reivindicaciones 45-48, en donde la visita 4 ocurre a los 5 meses de la edad.

10 50. El método de las reivindicaciones 45-49, en donde DTP, MenC y Strep se administran como inyecciones separadas en cualquier visita.

51. El método de las reivindicaciones 45-49, en donde se administran DTP, MenC y Strep como una vacuna de combinación en cualquier visita.

15 52. El método de las reivindicaciones 45-51, en donde MenB, una vacuna de proteína de subunidad de *N. meningitidis* o una vacuna de ampolla de membrana externa de *N. meningitidis* (preferiblemente aislada de una cepa del serogrupo B), se administra en la visita 1 y en la visita 3.

20 53. El método de la reivindicación 52, en donde MenB se da como una dosis de refuerzo en otra visita a los 11-15 meses de edad.

25 54. El método de las reivindicaciones 45-53, en donde el DTP se da como una dosis de refuerzo en otra visita a los 11-15 meses de edad.

151

55. El método de las reivindicaciones 45-54, en donde MenC se da como una dosis de refuerzo en otra visita a los 11-15 meses de edad.

5 56. El método de las reivindicaciones 45-55, en donde el Strep se da como una dosis de refuerzo en otra visita a los 11-15 meses de edad.

57. El método de las reivindicaciones 45-56, en donde el DTP adicionalmente comprende el antígeno superficial de HepB (opcionalmente absorbido en fosfato de aluminio).

10 58. El método de las reivindicaciones 45-57, en donde el DTP adicionalmente comprende el virus de polio inactivado.

59. El método de las reivindicaciones 45-58, en donde MenC adicionalmente comprende un sacárido capsular conjugado del serogrupo A de *N. meningitidis* que se conjuga opcionalmente al mismo portador de proteína que MenC.

60. El método de las reivindicaciones 45-59, en donde MenC adicionalmente comprende un sacárido capsular conjugado del serogrupo Y de *N. meningitidis* que se conjuga opcionalmente al mismo portador de proteína que MenC.

20 61. El método de las reivindicaciones 45-60, en donde MenC adicionalmente comprende un sacárido capsular conjugado del serogrupo W135 de *N. meningitidis* que se conjuga opcionalmente al mismo portador de proteína que MenC. 62.

25 62. El método de las reivindicaciones 45-61, en donde MenC adicionalmente comprende un sacárido capsular de *H.*

*influenzae* tipo B conjugado que se conjuga opcionalmente al mismo portador de proteína que MenC.

63. El método de las reivindicaciones 45-61, en donde el DTP adicionalmente comprende un sacárido capsular de *H. influenzae* tipo B conjugado que se conjuga opcionalmente al mismo portador de proteína que MenC.

64. El método de las reivindicaciones 45-63, en donde por lo menos un sacárido capsular se conjuga a TT en las vacunas de MenC y Strep.

65. El método de las reivindicaciones 45-64, en donde por lo menos un sacárido capsular se conjuga a DT en las vacunas de MenC y Strep.

66. El método de las reivindicaciones 45-65, en donde por lo menos un sacárido capsular se conjuga a CRM 197 en las vacunas de MenC y Strep.

67. El uso de las vacunas de las reivindicaciones 45-66 en la fabricación de un medicamento para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, *Bordetetta pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae* y *Streptococcus pneumoniae*, en donde se administra al paciente vacuna de acuerdo al régimen de vacunación de las reivindicaciones 45-67.

68. Un kit que comprende todas las vacunas requeridas para la administración de vacuna de la visita 1 de las reivindicaciones 45-67, e instrucciones para su uso.

69. Un kit que comprende todas las vacunas requeridas para la administración de la vacuna de la visita 2 de las reivindicaciones 45-67, e instrucciones para su uso.

70. Un kit que comprende todas las vacunas requeridas  
5 para la administración de la vacuna de la visita 3 de las reivindicaciones 45-67, e instrucciones para su uso.

10

15

20

25



No. 08-075140- -00000-0000

Fecha: 2008-07-21 16:39:03 Dep. 2020 NUECREACION  
Tra. 11 PATENTEYII Eve: 378 FASENACIONAL  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 154



**Industria y Comercio**  
SUPERINTENDENCIA

**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] 31
- ◆ 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 [ ]

Diago  
Firma Responsable

Fecha

21-07-08

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10  
Conmutador: 3 82 08 40  
Fax: 350 52 20  
E-mail: [info@sic.gov.co](mailto:info@sic.gov.co)  
[www.sic.gov.co](http://www.sic.gov.co)  
Bogotá, D.C., Colombia

156

**REPUBLICA DE COLOMBIA**  
**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Bogotá,  
2020

Doctor(a)  
LLOREDA RICAURTE ALICIA  
Apoderado(a) y/o Representante de  
GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICAL S.A.

|            |                            |                   |
|------------|----------------------------|-------------------|
| REFERENCIA | Radicación No.             | 8 75140           |
|            | Solicitud internacional    | PCT/EP2006/070173 |
|            | Fecha inicio fase nacional | 23/07/2008        |
|            | Trámite                    | 11                |
|            | Evento                     | 378               |
|            | Actuación                  | 430               |
|            | Oficio No.                 |                   |

**10726**

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, deben legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil.

2. El solicitante debe presentar un nuevo título que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el título relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular única 5.2.9)

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

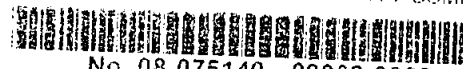
Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL  
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 22. AGO. 2008  
jfernand

BOGOTÁ - COLOMBIA  
OFICINA FUNDADA EN 1941  
APARTADO AEREO 12304

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-075140-00002-0000

Fecha: 2008-10-17 18:09:50 Dep: 2020 NUECREACION m  
Tra: 11 PATENTEYII Eya: 378 FASENACIONALI m  
Act: 444 RESPUESTAREQUE Folios: 8

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. \_\_\_\_\_ S. \_\_\_\_\_ D. \_\_\_\_\_

Re: P1.-GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.-Solicitud de Patente  
de Invención en Fase Nacional PCT para "VACUNAS DE  
CONJUGADO CONTRA NEISSERIA MENINGITIDIS Y  
STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE".-Clase A61K 39/095.-  
Expediente número 08-075.140.-

1. Me refiero al auto dictado por ese Despacho notificado por fijación en lista el 22 de Agosto de 2008.
2. Dando cumplimiento al mencionado requerimiento, atentamente me permito presentar a ese Despacho el documento que acredita el traspaso, que el autor de la patente de la referencia hace a favor de mi representado, de los derechos sobre la misma, debidamente apostillado, junto con la Traducción Oficial número 577/08, legalizada hasta por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia bajo el número 124894, de 22 de Septiembre de 2008.
3. De otra parte, me permito manifestar a este Despacho que es deseo del solicitante modificar el título de la patente que nos ocupa, con el fin de que éste permita identificar más claramente el objeto de la misma, y atienda la solicitud hecha por este Despacho. El nuevo título es:

**"VACUNAS DE CONJUGADO CONTRA NEISSERIA MENINGITIDIS Y  
STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE"**

**LLORED & CIA. S. A.**

---

4. En vista de lo anterior, anexo me permito presentar:

(a) Nuevas páginas 1 y 2, correspondientes al resumen y a la primera página de la descripción, que reemplazan las originalmente presentadas ante este Despacho, y en las cuales se ha modificado el título de la patente; y

(b) Nuevos extractos en sus dos formas al igual que la tarjeta de propietario, que reemplazan los originalmente presentados, y los cuales incluyen el nuevo título de la patente.

5. Ruego a usted tomar atenta nota de lo anterior y proceder de conformidad.

Señor Superintendente,

  
ALICIA LLORED RICAURTE  
T.P. 53.215

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 577/08 DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN FRANCÉS, EL CUAL PARA SU IDENTIFICACIÓN SE SELLA CON EL SELLO DEL TRADUCTOR. ESTA ES UNA TRADUCCIÓN OFICIAL EFECTUADA EL DIA 19 DE SEPTIEMBRE 2008 POR JEAN-JACQUES TURPIN, C.E.: 193849 DE BOGOTÁ, TRADUCTOR E INTÉRPRETE OFICIAL SEGÚN RESOLUCIÓN No. 2680/91 DEL 19 DE DICIEMBRE DE 1991, EXPEDIDA POR EL MINISTERIO DE JUSTICIA DE COLOMBIA.

---

Autenticaciones que se hallan a continuación de un documento de cesión conferido en inglés y español por **Jan POOLMAN**, quien declara ceder a la sociedad **GlaxoSmithKline Biologicals s.a.**, una compañía organizada bajo las leyes de **Bélgica**, domiciliada en **Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart, Bélgica**, todos sus derechos, título e intereses sobre su invención tal como describe en: **Vacuna de conjugado**, en lo que concierne a la República de Colombia.

Dado y firmado en Rixensart, Bélgica, el 11 de agosto de 2008 por Jan POOLMAN.

Legalización de la firma de Jan POOLMAN. Firma ilegible de Dominique Vinel, Notario en Rixensart.

Sello: Dominique Vinel, Notario en Rixensart (Genval).

### **APOSTILLA**

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

1. - País: Bélgica  
El presente documento público
2. - ha sido firmado por Vinel Dominique
3. - obrando en calidad de Notario
4. - con sello de Notario en Rixensart

**CERTIFICADO**

- 5. - En Bruselas
- 6. - El 03 de septiembre 2008
- 7. - Por el Servicio público federal de Relaciones Exteriores, Comercio exterior y Cooperación para el Desarrollo
- 8. - Bajo el número **9805080903319543**
- 9. - Sello: Servicio público federal de Relaciones Exteriores, Comercio exterior y Cooperación para el Desarrollo
- 10. - Firma ilegible de Verfaillie Arnaud.

Sello en español: Consulado General de Colombia en Bruselas, Bélgica. Autenticación de firma No. 134, del 03 de septiembre de 2008. El Cónsul, previa la confrontación correspondiente DA FE que la firma que aparece en este documento es similar a la registrada en este despacho por Arnaud VERFAILLIE, funcionario del Ministerio de Relaciones Exteriores de Bélgica.

El Cónsul no asume responsabilidad por el contenido del documento. Firma ilegible de LUZ AMANDA RESTREPO SABOGAL, CONSUL. Derechos consulares por valor de US\$ 15. Impuesto de timbre por valor de US\$ 10. Total pagado, US\$ 25.

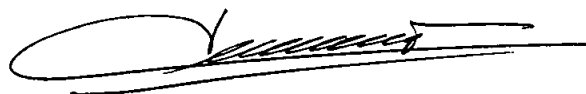
Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en los archivos de esta oficina para confrontación y a la cual me remito.

Traducción oficial No. 577/08.

Traductor: Jean-Jacques Turpin

Bogotá, D.C., 19 de septiembre de 2008.

Traducción Oficial No. 577/08  
JEAN - JACQUES H. TURPIN  
Traductor e Intérprete Oficial  
FRANCOIS - ESPANOL  
Res. Minjusticia No. 2680/91



MINISTERIO DE  
RELACIONES  
EXTERIORES

NO ASUME  
RESPONSABILIDAD  
DEL TEXTO

124894

*Jean Jacques H. Torner*  
CUYA FIRMA APARECE EN EL  
DOCUMENTO DESEMPEÑA  
LAS FUNCIONES INDICADAS

2008 SEP 22 P 12:13

*AKC*  
JEFE DE LEGALIZACIONES  
BOGOTA D.C.

161

## ASSIGNMENT

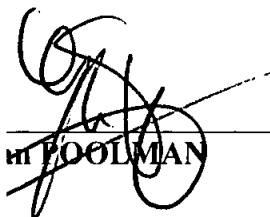
an POOLMAN

y means of this document assign to

GlaxoSmithKline Biologicals s.a.

company organized under the laws of  
Belgiumomiciled in  
rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart,  
Belgiumhereinafter referred to as the ASSIGNEE). All  
my (our) rights, title and interest in and to my  
(our) invention for a new and useful  
improvement entitled and as fully set forth and  
described in:

## CONJUGATE VACCINES

so far as the Republic of Colombia is  
concerned.Place and date: 11 August 08  
Rixensart  
Belgium  
IAN POOLMAN

## CESION

Ian POOLMAN

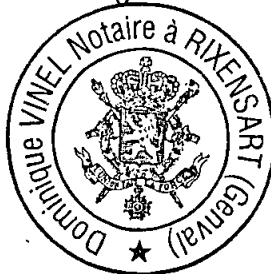
por medio de la present cedo (cedemos) a

GlaxoSmithKline Biological S.A.

una sociedad organizada baja las  
leyes de Bélgicadomiciliada en  
rue de l'Institut 89, B-1330  
Rixensart, Belgique(de ahora en adelante el CESIONARIO), todos  
mis (nuestros) derechos, titulo e interes sobre mi  
(nuestra) invencion tal como describe en:

Vacunas de Conjugado

En lo que concierne a la Republica de Colombia.

Dominique VINEL,  
notary public at Rixensart,  
hereby certifies that this (these)  
is (are) the authentic signature(s) of  
Ian Poolman

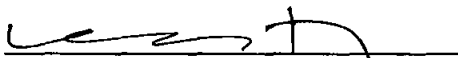
**CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA  
BRUSELAS - BELGICA**

**AUTENTICACION DE FIRMA No. 134**

Septiembre 03 de 2008

El cónsul, previa la confrontación correspondiente,  
DA FE que la firma que aparece en este documento  
es similar a la registrada en este despacho por  
**Arnaud VERFAILLIE**, funcionario del Ministerio de  
Relaciones Exteriores de Bélgica.

El Cónsul no asume responsabilidad por el  
contenido del documento.

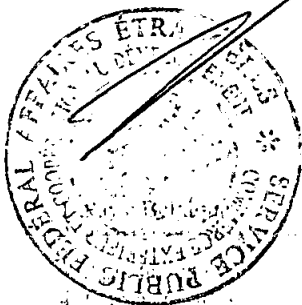
  
**LUZ AMANDA RESTREPO SABOGAL**  
CONSUL

*Derechos consulares : USD 15  
Impuesto de Timbre : USD 10  
Total pagado : USD 25 (€16.25)*

**APOSTILLE**

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Pays: Belgique
2. Le présent acte public a été signé par: Vinel, Dominique
3. Agissant en qualité de: Notaire
4. Est revêtu du sceau / timbre de: Notaire  
Rixensart
- Attesté**
5. A Bruxelles
6. Le: 03/09/2008
7. Par le Service public fédéral Affaires étrangères, Commerce extérieur et Coopération  
au Développement
8. Sous le n°: **9805080903319543**
9. Sceau/timbre:
10. Signature:



Verfaillie Arnaud

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

**VACUNAS DE CONJUGADO CONTRA NEISSERIA MENINGITIDIS Y**  
**STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE**

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

5

La invención proporciona vacunas contra *Neisseria meningitidis*, neumococo y DTPa/w. Particularmente se proporcionan las vacunas basadas en sacáridos capsulares conjugados de serogrupos meningocócicos y/o neumocócicos múltiples. Además se proporcionan esquemas de administración de vacuna para la inmunización de pacientes humanos con dos o más de estas vacunas.

15

20

25

**VACUNAS DE CONJUGADO CONTRA *NEISSERIA MENINGITIDIS* Y**  
***STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE***

**Campo de la Invención**

5           Esta invención se refiere a vacunas contra *Neisseria meningitidis* y neumococos, particularmente se refiere a las vacunas basadas en sacáridos capsulares conjugados de serogrupos múltiples meningocócicos y/o neumocócicos.

**Antecedentes de la Invención**

10           En base al polisacárido capsular del organismo, doce serogrupos de *N. meningitidis* se han identificado (A, B, C, H, I, K, L, 29E, W135, X, Y y Z). El grupo A es el patógeno implicado más frecuentemente en la enfermedad epidémica en África Subsahariana. Los serogrupos B y C son responsables de la gran  
15           mayoría de casos en los Estados Unidos de Norteamérica y en la mayoría de los países desarrollados. Los serogrupos W135 e Y son responsables de los casos restantes en Estados Unidos de Norteamérica y países desarrollados.

20           Una vacuna tetravalente de polisacáridos capsulares de los serogrupos A, C, Y y W135 se ha conocido durante muchos años [1, 2]. Aunque es efectiva en adolescentes y adultos, induce una inmunorespuesta pobre y una duración corta de protección y no se puede utilizar en niños [por ejemplo referencia 3] debido a que los polisacáridos son antígenos independientes de las células T  
25           que inducen una inmunorespuesta débil que no puede ser  
25           aumentada. Los polisacáridos en esta vacuna no se conjugan [4].

164

|                                                                                                                                      |                                                       |                                                                                                                                                                             |                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| <br><b>Industria y Comercio</b><br>SUPERINTENDENCIA |                                                       | <b>SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO</b><br><b>DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES</b><br><b>EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN</b><br><b>SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT</b> |                                          |
| 21) No. de solicitud: <b>08-075.140</b>                                                                                              |                                                       | (51) Int Cl: A61K 39/095                                                                                                                                                    |                                          |
| 22) Fecha de solicitud: 21-07-08                                                                                                     |                                                       | (71) Solicitante(s): <b>GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.</b>                                                                                                                |                                          |
| 30) Prioridad                                                                                                                        | (31) <b>No. Prioridad</b><br>0526412.2<br>0607088.2   | (32) <b>Fecha</b><br>23-12-05<br>07-04-06                                                                                                                                   | (33) <b>País</b><br>GB<br>GB             |
|                                                                                                                                      |                                                       | (72) Inventor(es): POOLMAN, Jan.                                                                                                                                            |                                          |
|                                                                                                                                      |                                                       | (74) Apoderado: <b>ALICIA LLOREDA RICAURTE</b>                                                                                                                              |                                          |
| 85)                                                                                                                                  | Fecha límite inicio fase nacional: 23-07-08           |                                                                                                                                                                             | (87) Publicación internacional           |
| 86)                                                                                                                                  | Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT |                                                                                                                                                                             | Fecha: <b>28-06-07</b>                   |
|                                                                                                                                      | Fecha de presentación de la solicitud: 22-12-06       |                                                                                                                                                                             | N° publicación: <b>WO 2007/071786 A3</b> |
|                                                                                                                                      | No. de solicitud: <b>PCT/EP2006/070173</b>            |                                                                                                                                                                             |                                          |
| 54) Titulo: <b>VACUNAS DE CONJUGADO CONTRA NEISSERIA MENINGITIDIS Y STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</b>                                     |                                                       |                                                                                                                                                                             |                                          |

Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 1.-

Un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano una composición que comprende por lo menos dos de: (a) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo A y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo C y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; (c) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo W135 y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; y (d) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo Y e (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo, en donde se ha pre-inmunizado al paciente con (a) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo y/o (b) un conjugado de (i) de un sacárido capsular de un organismo distinto de *N. meningitidis* y de (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo.

165



**Industria y Comercio**

PERINTENDENCIA

**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

**DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES**

**TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS**

PATENTE DE INVENCION \_\_\_\_ PCT   X   MODELO DE UTILIDAD \_\_\_\_ DISEÑO INDUSTRIAL \_\_\_\_

No. de solicitud: **08-075.140**

(22) Fecha de solicitud: 21-07-08

Clasificación Internacional: A61K 39/095

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

Inventor(es): POOLMAN, Jan.

Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

| Prioridad | (31) | No. Prioridad | (32) | Fecha    | (33) | País |
|-----------|------|---------------|------|----------|------|------|
|           |      | 0526412.2     |      | 23-12-05 |      | GB   |
|           |      | 0607088.2     |      | 07-04-06 |      | GB   |

Fecha limite inicio fase nacional: 23-07-08

(87) Publicación internacional

Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha: **28-06-07**

Fecha de presentación de la solicitud: 22-12-06

No. publicación: **WO 2007/071786 A3**

No. de solicitud: **PCT/EP2006/070173**

Título: **VACUNAS DE CONJUGADO CONTRA NEISSERIA MENINGITIDIS Y STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE**



**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

**DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES**

**TARJETA ARCHIVO TEMÁTICO**

PATENTE DE INVENCION \_\_\_\_ PCT X MODELO DE UTILIDAD \_\_\_\_ DISEÑO INDUSTRIAL \_\_\_\_

(21) No. de solicitud: **08-075.140**

(22) Fecha de solicitud: 21-07-08

(51) Clasificación Internacional: A61K 39/095

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

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

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

| (30) Prioridad | (31) No. Prioridad | (32) Fecha | (33) País |
|----------------|--------------------|------------|-----------|
|                | 0526412.2          | 23-12-05   | GB        |
|                | 0607088.2          | 07-04-06   | GB        |

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 23-07-08

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

Fecha de presentación de la solicitud: 22-12-06

No. de solicitud: **PCT/EP2006/070173**

(87) Publicación internacional:

Fecha: **28-06-07**

No. Publicación : **WO 2007/071786 A3**

**FIGURA CARACTERISTICA**

**6 x 6 cm**

(54) Título:

**VACUNAS DE CONJUGADO CONTRA NEISSERIA MENINGITIDIS Y STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE**

(57) Resumen:

**Reivindicación número 1.-**

Un método para inmunizar a un paciente humano contra una enfermedad causada por *Neisseria meningitidis*, que comprende la etapa de administrar al paciente humano una composición que comprende por lo menos dos de: (a) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo A y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; (b) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo C y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; (c) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo W135 y (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo; y (d) un conjugado de (i) un sacárido capsular de *N. meningitidis* del serogrupo Y e (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo, en donde se ha pre-inmunizado al paciente con (a) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo y/o (b) un conjugado de (i) de un sacárido capsular de un organismo distinto de *N. meningitidis* y de (ii) un toxoide de tétanos o un derivado del mismo.



2020  
Bogotá D.C.,

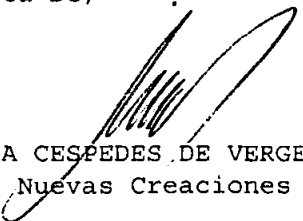
Doctor(a)  
LLOREDA RICAURTE ALICIA  
Apoderado(a) y/o Representante de  
GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICAL S.A.

|            |                            |                   |
|------------|----------------------------|-------------------|
| REFERENCIA | Radicación No.             | 8 75140           |
|            | Solicitud internacional    | PCT/EP2006/070173 |
|            | Fecha inicio fase nacional | 23/07/2008        |
|            | Trámite                    | 11                |
|            | Evento                     | 378               |
|            | Actuación                  | 416               |
|            | Oficio No.                 | 9542              |
|            | Folios                     | 1                 |

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase  
Dado en Bogotá DC,

07 DIC. 2009

  
ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL  
Directora de Nuevas Creaciones (c)

adpall