

**JOSE LLORED CAMACHO & CO.**

**ABOGADOS**

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



**No. 03-088387-B-00009-0000**

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO

E.

S.

Fecha: 2011-02-08 16:00:42 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALI  
Act. 412 REPOSPRESRECU Folios: 18

Re: **P1.-GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.-Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional PCT para "COMPOSICIÓN INMUNOGENICA MULTIVALENTE PARA LA PREVENCIÓN DE INFECCIÓN POR Bordetella pertussis, Clostridium tetani, & Corynebacterium diphteriae".-Clase A61K 39/295.-Expediente número 03-088.387B.-**

1. Yo, **ALICIA LLORED RICAURTE**, mayor, vecina de esta ciudad, abogada titulada e identificada con la cédula de ciudadanía número 39.690.713 de Usaquén, Representante Legal en Bogotá, para todos los asuntos relacionados con la Propiedad Industrial de la sociedad **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.-** organizada y existente de conformidad con las leyes de Bélgica, domiciliada en Rixensart, Bélgica, atentamente manifiesto a usted que interpongo **RECURSO DE REPOSICIÓN** contra la Resolución Número **71960**, dictada por el señor Superintendente de Industria y Comercio el 23 de Diciembre de 2010 y notificada por Edicto fijado el 19 de Enero de 2011, en cuanto hace a la negación del privilegio de patente de invención para la solicitud en referencia.

**2. FUNDAMENTO MI RECURSO EN LOS SIGUIENTES HECHOS Y ARGUMENTOS TÉCNICOS Y JURÍDICOS**

(1) Por medio de la Resolución Número **71960** se ha negado el privilegio de patente solicitado para la invención de la referencia, con base en una supuesta falta de Nivel Inventivo de la solicitud teniendo en cuenta la existencia de los documentos **WO93/24148 (D1)** y **Ambrosch F. et al Bulletin of the World Health Organization, vol. 61(2), 317-323, 1983(D2)**.

(2) De la lectura de la referida Resolución Número **71960** es evidente el análisis erróneo que hace ese Despacho del arte previo citado y la falta de consideración con respecto tanto del aporte que brinda la presente invención como de las características particulares que esta posee, constituyéndose dicha actuación en una violación de los Artículos 14 y 18 de la Decisión Andina 486 de 2000.

(3) Así mismo, de la lectura de la Resolución impugnada, es también claro que ese Despacho no repara en los argumentos esgrimidos en mi memorial de 15 de Septiembre de 2010, los cuales establecieron de forma incontrovertible el nivel

inventivo que conlleva la solicitud denegada frente al estado del arte más próximo, y por lo tanto ese Despacho afirma que *"se evidencia que el desarrollo de la presente solicitud carece de nivel inventivo, puesto que con la información del estado de la técnica, particularmente los documentos D1 y D2, cualquier técnico de nivel medio versado en la materia hubiese podido aplicar una composición inmunogénica, tal y como la reivindicada en la solicitud bajo estudio"*.

Sobre este particular, me permito dirigir la atención de ese Despacho a los siguientes argumentos técnicos, por medio de los cuales se puede afirmar sin lugar a dudas que la materia revelada en la invención denegada, es merecedora del privilegio de patente solicitado ya que, contrario a la posición de esa Oficina, dicha materia sí cumple con el requisito de nivel inventivo tal como es exigido en el Artículo 18 de la Decisión 486 de 2000, como me permito demostrar a continuación, siendo también dichos argumentos prueba de la violación del mencionado Artículo por parte de la SIC al negar el privilegio de patente solicitado.

(4) **La solicitud denegada brinda un aporte significativo al estado de la técnica que no es evidente a partir del arte previo.**

En primera instancia, me permito resaltar que la solicitud denegada proporciona una novedosa composición inmunogénica multivalente que comprende:

- (a) componentes de pertussis acelulares que comprenden toxoide de pertussis y FHA;
- (b) toxoide tetánico;
- (c) toxoide diftérico;
- (d) antígeno de superficie de la hepatitis B;
- (e) virus de la polio inactivado; y
- (f) cualquiera o ambos conjugados de una proteína portadora y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo N. meningitidis tipo Y (MenY) y N. meningitidis tipo C (MenC).

De esta forma, la presente invención corresponde al desarrollo de una vacuna conjugada heptavalente DTPa-HBV-IPV-MenC-MenY, la cual se caracteriza por que de manera inesperada no se genera una interferencia significativa en el rendimiento inmunológico de cada uno de los componentes de dicha vacuna.

En relación con lo anterior me permito señalar que la solicitud denegada por primera vez presenta una vacuna heptavalente, la cual de ninguna manera podría ser evidente a partir del arte previo, máxime cuando la persona versada en la materia estaría conciente del hecho que las vacunas multivalentes pueden llegar a ser

ineficientes debido a presencia de una interferencia entre los antígenos, comportamiento que no es de ninguna manera predecible<sup>1</sup>:

*"En conclusión, la interferencia de vacunas es el resultado de interacciones complejas multifactoriales. Las interferencias entre valencias de polisacáridos conjugados a proteínas y valencias toxoides cuando están combinadas y/o asociada son las cuestiones principales en el campo de la vacunación pediátrica de combinación. **La interferencia de vacunas no es genérica, y por lo tanto no es predecible.** Esto limita y ralentiza el desarrollo de nuevas soluciones de vacunación en el campo de la vacunación pediátrica. **Desde una perspectiva práctica no se recomiendan todas aquellas mezclas extemporáneas de vacunas o asociaciones de vacunas no mencionadas en el respectivo prospecto del producto.**"* (Resaltado fuera de texto).

Consecuentemente, la presente invención muestra de manera sorprendente una composición heptavalente efectiva, la cual permite proteger de manera eficiente al paciente contra 7 diferentes antígenos, sin requerir administraciones separadas de estos.

En este sentido es pertinente resaltar que esta se constituye en un claro aporte al estado de la técnica, toda vez que los infantes deben ser inmunizados con un gran número de antígenos, y mucho más son descubiertos cada día, pero la posibilidad de realizar las inmunizaciones es limitada debido a la imposibilidad de realizar visitas frecuentes al profesional de la salud. Por lo tanto, es un aporte significativo una composición inmunogénica multivalente que brinde una inmunización adecuada contra cada uno de siete antígenos después de la aplicación de una sola vacuna.

**(5) A partir de los documentos citados no es evidente la composición inmunológica multivalente reclamada por la presente invención.**

Ahora bien, como se discutió anteriormente la referenciada Resolución Número **71960** señala que para la persona versada en la materia sería evidente combinar las composiciones inmunogénicas reveladas en los documentos D1 y D2 para obtener aquella que es objeto de la solicitud denegada.

A este respecto me permito manifestar que la mencionada persona versada en la materia no tendría ninguna motivación para llevar a cabo dicha combinación, toda vez que ni a partir de las enseñanzas de D1 y D2, ni de su conocimiento básico en la materia, podría tener certeza de que al realizarla todos y cada uno de los antígenos presentados brindarían una respuesta inmunológica satisfactoria.

---

<sup>1</sup> Vidor, E. "The Nature and Consequences of Intra- and Inter-Vaccine Interference" J.Comp. Path., Vol.137, S62-S66, 2007.

De esta forma, el documento D1 está encaminado a buscar una manera más adecuada para formular el antígeno de superficie de la hepatitis B en una composición multivalente:

*"En un aspecto la presente invención proporciona una composición de vacuna combinada que comprende un antígeno de superficie de Hepatitis B (HBsAg) y un número (n) de otros antígenos en combinación con un adyuvante que comprende una o más sales de aluminio en la cual el valor de n es 1 o mayor y en la cual el adyuvante empleado para absorber el HBsAg no es hidróxido de aluminio, con la condición que cuando n es 1 el otro antígeno no es un antígeno contra Hepatitis A."* (Página 2, líneas 14 a 19, D1).

Sin embargo, dicho documento D1 no sugiere de ninguna manera que si se tiene **específicamente** una composición multivalente que incluya:

- (a) componentes de pertussis acelulares que comprenden toxoide de pertussis y FHA;
- (b) toxoide tetánico;
- (c) toxoide diftérico;
- (d) antígeno de superficie de la hepatitis B;
- (e) virus de la polio inactivado; y
- (f) cualquiera o ambos conjugados de una proteína portadora y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo N. meningitidis tipo Y (MenY) y N. meningitidis tipo C (MenC);

Se tendría una respuesta inmunológica satisfactoria para cada uno de los antígenos allí contenidos.

En conexión con lo anterior, la Resolución impugnada indica que sería evidente tomar la composición de D1 y combinarla con aquella de D2 (composición de antígenos meningocócicos). Sin embargo, esta combinación de enseñanzas de ninguna manera sería evidente, toda vez que dentro de los documentos citados no se sugiere la combinación **simultánea** de todos los antígenos presentes en la composición inmunogénica de la invención, ni se indica que se mantendría una respuesta inmunológica satisfactoria para todos estos antígenos.

De esta forma, el documento D1 únicamente señala que **el antígeno de superficie de la hepatitis B** podría ser formulado con antígenos adecuados meningocócicos:

*"En una vacuna pediátrica se pueden incluir **otros antígenos compatibles**, por ejemplo antígenos conocidos como efectivos contra meningitis B, meningitis A y C y otitis media."* (Página 3, líneas 14 y 15, D1, resaltado fuera de texto).

En conexión con lo anterior me permito resaltar que **este señalamiento de ninguna manera implica una afirmación con respecto a que una vacuna que incluya además del antígeno de superficie de la hepatitis B, antígenos de pertussis, toxoide tetánico, toxoide diftérico y virus de la polio podría ser combinada con antígenos de meningitis y proveer una respuesta inmunológica satisfactoria para todos y cada uno de los antígenos allí contenidos.**

En este sentido es pertinente señalar primero que en este aparte el documento D1 se refiere a que dentro de la formulación pueden incluirse antígenos meningocócicos **compatibles**, es decir, un antígeno que sea efectivamente probado como que no presente interferencia, pero dicho documento no indica específicamente que tipo de antígeno meningocócico podría ser adecuado para este propósito, y por lo tanto no sería evidente pensar en un polisacárido conjugado como los empleados en la presente invención.

De otra parte, **el mencionado señalamiento a lo sumo indicaría que el antígeno de superficie de hepatitis B podría ser combinado con un antígeno meningocócico (uno determinado como compatible), pero no puede de ninguna manera considerarse como una afirmación absoluta de que una composición de vacuna conteniendo todos y cada uno de los antígenos antes mencionados podría brindar resultados satisfactorios.**

Consecuentemente, el documento D1 no está señalando el camino para obtener la composición inmunogénica de la invención, sino que únicamente sugiere la posibilidad de que existan antígenos meningocócicos compatibles con el antígeno de superficie de la hepatitis B.

Ahora bien, la Resolución impugnada afirma que *"aún cuando en su momento D1 haya tenido como objetivo optimizar la respuesta inmune de HepB, esta optimización sirvió para poder incluir el antígeno de MenC y MenY en la invención de la solicitud sin que aparentemente se presentara interferencia"*.

En relación con esta afirmación me permito resaltar que ese Despacho está partiendo de la invención como ha sido revelada para realizar su análisis de nivel inventivo, lo cual de ninguna manera es una práctica permitida en el ámbito de las patentes. Así, el documento D1 efectivamente optimiza la **formulación** del antígeno de superficie de hepatitis B, pero de ninguna manera esta optimización podría

extrapolarse a una vacuna que contenga 7 antígenos como aquella que es objeto de la presente invención.

Por lo tanto, no puede afirmarse, como lo hace ese Despacho, que la optimización de D1 "sirve para poder incluir" antígenos meningocócicos a una composición pentavalente, porque D1 no muestra dicha composición, únicamente afirma que cierto tipo de antígenos meningocócicos podrían ser compatibles **con el antígeno de superficie de hepatitis B**, pero de ninguna manera sugiere que dichos antígenos además serían compatibles con antígenos de pertussis, toxoide tetánico, toxoide diftérico y virus de la polio todos formulados en la misma composición.

Consecuentemente, la optimización de D1 no tiene como fin incluir los antígenos meningocócicos dentro de una formulación pentavalente, por lo que no puede considerarse como que sugiere la composición inmunogénica multivalente de la presente invención.

Por su parte, **el documento D2 se enfoca únicamente en mostrar que existen composiciones multivalentes de antígenos meningocócicos, que brindan buenos resultados inmunológicos, pero de ninguna manera indica o sugiere que esta composición no presentaría interferencia al ser formulada junto con otra que contenga antígenos de pertussis, toxoide tetánico, toxoide diftérico, virus de la hepatitis B y virus de la polio.**

Así, el documento D2 señala que: *"Las potencias inmunogénicas de vacunas polisacáridas meningocócicas monovalentes, bivalentes y tetravalentes, que contienen 50µg de antígeno específico por dosis, fueron compatibles en magnitud con respecto a anticuerpos del grupo A y C (Tabla 3)." (Página 320, segunda columna, último párrafo, D2).*

Es decir, el documento D2 si señala que los antígenos allí empleados pueden ser formulados en una composición tetravalente brindando buenos resultados de inmunogenicidad, pero no evalúa ni sugiere cuál comportamiento podría esperarse al combinar estos antígenos con otros diferentes como antígenos de pertussis, toxoide tetánico, toxoide diftérico y virus de la polio simultáneamente.

En conexión con este hecho la Resolución impugnada afirma que *"Las composiciones de D2 fueron desarrolladas y probadas como una vacuna cuyos componentes no interfieren entre sí con respecto a la inmunogenicidad"*, sin embargo, si bien esta afirmación es cierta, la persona versada en la materia estaría consiente de que aún cuando los antígenos dentro de una composición no interfieran

entre sí, no es de ninguna manera posible extrapolar este comportamiento a otros antígenos.

Es decir, **tal como se discutió anteriormente, en el campo técnico de la invención es reconocido que la interferencia entre antígenos no es genérica, y por lo tanto no es de ninguna manera predecible, por lo que la persona versada en la materia partiendo de las enseñanzas de D2 de ninguna manera pensaría que dado que los antígenos meningocócicos allí empleados no producen interferencia entre sí, tampoco lo harían con antígenos de pertussis, toxoide tetánico, toxoide diftérico, virus de la hepatitis B y virus de la polio formulados conjuntamente.**

Sumado a lo anterior, los antígenos meningocócicos empleados en D2 no son **polisacáridos conjugados** como los que hacen parte de la composición inmunogénica de la solicitud denegada, sino que son polisacáridos sin conjugar, lo que haría que aún si se combinaran las composiciones de D1 y D2 se necesitara modificar los antígenos allí revelados para obtener la presente invención.

Ahora bien, con respecto a la combinación de D1 y D2 la Resolución Número **71960** indica que *"a partir de la información dada por D1 y D2, la primera opción de elección para el técnico de nivel medio versado en la materia era mezclar las dos composiciones y así obtener inmunidad a partir de una única aplicación"*.

Con respecto a esta afirmación, me permito resaltar que esta se constituye en una prueba fehaciente de la incorrecta interpretación que hace ese Despacho del arte previo citado.

Como se discutió anteriormente, el documento D1 está completamente enfocado en composiciones multivalentes que contienen antígeno de superficie de hepatitis B, lo que implica que el señalamiento con respecto a que antígenos "compatibles" meningocócicos podrían ser introducidos dentro de la formulación se refieren únicamente a la combinación de antígenos meningocócicos con dicho antígeno de superficie de hepatitis B, pero de ninguna manera podría extrapolarse a una formulación que además contenga otros antígenos.

Por lo tanto, a la luz de esta indicación de D1, la persona versada en la materia podría pensar en tomar la composición meningocócica tetravalente de D2 y combinarla **únicamente** con el mencionado antígeno de superficie de hepatitis B (aún cuando no podría tener certeza de que específicamente estos antígenos sean "compatibles").

Es decir, **contrario a lo afirmado por ese Despacho, a partir de las enseñanzas de D1 y D2 la opción más "evidente" no sería combinar además del antígeno de superficie de la hepatitis B, antígenos de pertussis, toxoide tetánico, toxoide diftérico y virus de la polio con los antígenos meningocócicos de D2, sino que sería más obvio combinar sólo el antígeno de superficie de la hepatitis B con dichos antígenos meningocócicos.**

Así mismo, como se expuso anteriormente, D2 no muestra antígenos de polisacáridos meningocócicos conjugados, sino sin conjugar, por lo que adicionalmente a combinar las enseñanzas de D1 y D2 la persona versada en la materia debería modificar la manera de presentar estos antígenos para poder obtener la solicitud denegada.

Dentro de este marco de ideas, me permito resaltar que si a partir de las enseñanzas de dos documentos tan antiguos (D1, -1993-, D2, -1983-) fuera realmente evidente una composición heptavalente como la reclamada por la solicitud denegada, ¿porqué sólo después de mucho tiempo de la divulgación de estos documentos (8 años, tomando en consideración la fecha de prioridad de la solicitud) dicha composición fue producida?, ¿porqué no existe dentro del estado del arte ninguna otra composición similar que haya sido obtenida en todo ese tiempo?

En conexión con este hecho me permito resaltar que ese Despacho ha reconocido como estado del arte más próximo de la solicitud denegada únicamente los documentos D1 y D2, lo que implica que para ese Despacho no existe dentro del estado del arte ninguna revelación que se asemeje más a lo reclamado por dicha solicitud.

Consecuentemente, este hecho comprueba que durante todo el tiempo entre la divulgación del documento más reciente (D1,-1993-) y la prioridad de la solicitud no se desarrolló ninguna composición inmunogénica similar a la que es objeto de la invención, lo cual demostraría que dicha composición no puede ser de ninguna manera evidente a partir del estado del arte.

**(6) La comprobada eficacia de la composición inmunológica multivalente de la solicitud denegada no puede ser prevista a partir de las enseñanzas de D1 y D2.**

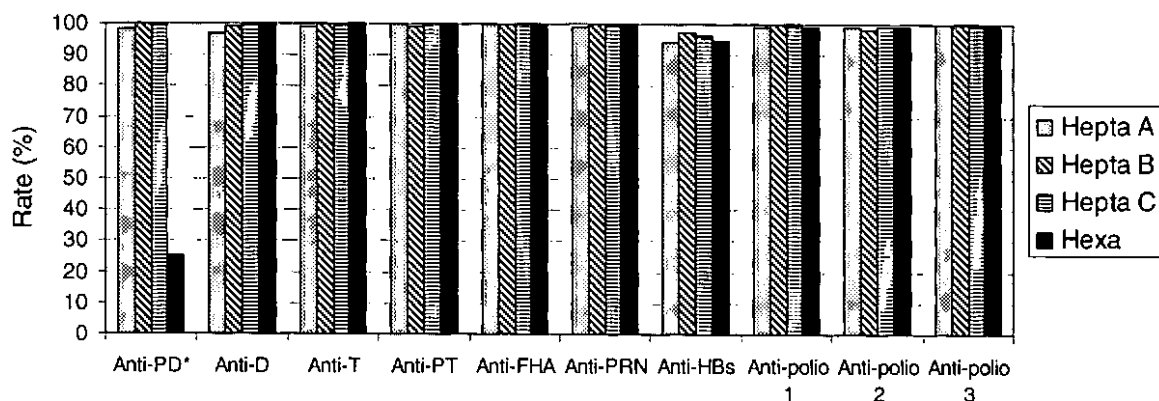
Sumado a lo discutido anteriormente, me permito resaltar que la composición antigénica multivalente de la presente invención si brinda una respuesta inmunológica satisfactoria para todos los antígenos allí presentes, lo cual fue comprobado por el solicitante.

Para demostrar este hecho me permito referirme a la presentación en la sesión de pósteres realizada por uno de los inventores de la presente solicitud (Dominic Boutriau), en el marco de la XXI reunión anual de la Sociedad Europea para las

Enfermedades Pediátricas Infecciosas (ESPID, por sus iniciales en inglés), que tuvo lugar en Sicilia, Italia, en abril de 2003.

En dicha presentación se muestran los resultados obtenidos de ensayos clínicos empleando vacunas heptavalentes que comprenden antígenos de pertussis, toxoide tetánico, toxoide diftérico, virus de la hepatitis B, virus de la polio y antígenos meningocócicos, como la que es objeto de la solicitud denegada. Estos ensayos fueron llevados a cabo simultáneamente a la presentación de la correspondiente solicitud internacional.

En esta presentación se resalta que tras la administración de la composición inmunogénica de la invención se obtuvieron respuestas anti-meningocócicas satisfactorias y respuestas de los demás antígenos comparables con vacunas hexavalentes, sin producir efectos colaterales significativos:



En conexión con lo anterior me permito señalar que este comportamiento no podría de ninguna manera ser previsto a partir del estado del arte, toda vez que la persona versada en la materia estaría conciente del hecho que no es posible predecir cuál será la interacción de dos antígenos al ser formulados juntos, y que dentro del campo técnico de la invención se reconoce que las posibles interferencias entre antígenos aumentan entre más compleja sea la composición de vacuna.

Consecuentemente, la composición inmunogénica multivalente de la presente solicitud brinda una respuesta inmune satisfactoria para todos los antígenos allí contenidos, lo cual de ninguna manera podría haber sido esperado partiendo de las enseñanzas del arte previo.

**(7) Dado que la combinación de los documentos citados no produce de forma evidente la invención denegada, esta se ajusta totalmente a lo establecido en el Artículo 18 de la Decisión Andina 486 de 2000.**

En virtud de los hechos discutidos anteriormente, se ha establecido que la persona versada en la materia partiendo de las enseñanzas de D1 y D2 no podría de ninguna manera obtener específicamente una composición inmunogénica

multivalente, heptavalente DTPa-HBV-IPV-MenC-MenY, como la que es reclamada por la solicitud denegada.

Dentro de este contexto me permito referirme al señalamiento que hace el Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina con respecto a las definiciones de "obvio" y "evidente" en la evaluación del Nivel Inventivo de una solicitud de patente<sup>2</sup>:

*"Resulta pertinente, a los efectos del artículo 4 de la Decisión 344, definir qué se entiende por "obvio" y por "evidente" a fin de determinar qué se debe entender por nivel inventivo.*

*Lo obvio es aquello que salta a la vista de manera clara y directa; lo "que se encuentra o pone delante de los ojos, muy claro o que no tiene dificultad". Mientras que lo evidente consiste en la "certeza clara y manifiesta de la que no se puede dudar; cierto, claro, patente y sin la menor duda". De forma que algo que resulte obvio no es necesariamente evidente; empero lo que es evidente, es también obvio.*

*En este orden de ideas, se puede concluir que una invención goza de nivel inventivo cuando a los ojos de un experto medio en el asunto de que se trate, se necesita algo más que la simple aplicación de los conocimientos técnicos en la materia para llegar a ella, es decir, que de conformidad con el estado de la técnica el invento no sea consecuencia clara y directa de dicho estado."*

De este señalamiento es claro que para la legislación Andina, para que exista afectación del requisito de nivel inventivo de una solicitud de patente es necesario que la invención allí revelada sea derivable de forma clara y directa del arte previo, y que las enseñanzas de este arte previo sin lugar a dudas conduzcan a dicha invención.

Ahora bien, para el caso que nos compete se ha demostrado que a partir de las enseñanzas de D1 y D2 no "salta a la vista de manera clara y directa" una composición inmunogénica heptavalente DTPa-HBV-IPV-MenC-MenY, toda vez que ninguno de D1 o D2 sugiere esta composición; así como también se ha establecido que a partir de dichos documentos no se tiene "certeza clara y manifiesta" de que dicha composición inmunogénica elicitara una respuesta inmune satisfactoria para todos y cada uno de los antígenos allí contenidos.

En vista de lo anterior, es claro que la solicitud denegada se ajusta totalmente a los lineamientos establecidos por el Artículo 18 de la Decisión Andina 486 de 2000, y por lo tanto la Resolución Número **71960** incurriría en una contravención a dicho

---

<sup>2</sup> Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina, PROCESO 192-IP-2005

Artículo y del Artículo 14 de la misma norma, al negar el privilegio de patente a una solicitud que si conlleva Nivel Inventivo.

En conexión con este hecho me permito señalar que en su análisis de Nivel Inventivo de la solicitud denegada ese Despacho incurre en lo que dentro del ámbito de las patentes se conoce como "hindsight", o análisis "Ex post facto", toda vez que conociendo de antemano la invención se están seleccionado partes específicas de las enseñanzas contenidas dentro de los documentos citados, agrupándolas de una manera particular y modificándolas de manera que permitan construir la materia reclamada por la presente solicitud, pasos que de ninguna manera podrían ser evidentes para la persona versada en la materia en el momento en el cual se desarrolló la invención.

En este sentido vale la pena resaltar que al tener conocimiento de la invención es de esperarse que dichas selección, agrupación y modificaciones particulares de las enseñanzas de D1 y D2 parezcan obvias, toda vez que ya se sabe de antemano que efectivamente estos elementos en combinación resuelven el problema planteado; sin embargo, esta información no era conocida por el inventor en el momento de desarrollar la invención, por lo que no podría tener certeza de la utilidad de realizar estos pasos.

En vista de lo anterior, dado que la única motivación que tendría la persona versada en la materia de reunir estas características particulares reveladas en D1 y D2 sería la misma invención como ha sido revelada, es evidente el Nivel Inventivo que conlleva dicha solicitud.

### **3. CONCLUSIÓN**

Por último, me permito señalar a ese Despacho que los hechos discutidos anteriormente en este escrito han establecido de forma incontrovertible que la presente solicitud sí cumple con el requisito **Nivel Inventivo** de acuerdo con lo establecido por el Artículo 18 de la Decisión 486, dado que a partir de las enseñanzas de los citados documentos D1 y D2 no sería posible obtener de manera evidente las características particulares que distinguen la composición inmunogénica multivalente reclamada por la solicitud denegada.

De esta forma, se demostró que el documento D1 se dirige a la optimización de la formulación del antígeno de superficie de la hepatitis B, pero no muestra que una composición que comprenda además antígenos de pertussis, toxoide tetánico, toxoide diftérico y virus de la polio, podría combinarse con antígenos meningocócicos, sin presentar interferencia.

Así mismo, se estableció que el documento D2 revela composiciones meningocócicas multivalentes, pero sólo indica que los antígenos allí contenidos no se interfieren entre sí, sin de ninguna manera señalar o sugerir que este comportamiento se tendría si se combinan dichos antígenos con antígenos de pertussis, toxoide tetánico, toxoide diftérico, virus de la hepatitis B y virus de la polio simultáneamente. De igual forma, los antígenos revelados en D2 son polisacáridos no conjugados, por lo que al combinar las enseñanzas de D1 con las de D2 habría que modificar estos antígenos para poder obtener la composición inmunogénica que es objeto de la solicitud denegada.

Por otro lado, se ha comprobado que para la persona versada en la materia es un hecho aceptado que la formulación simultánea de antígenos puede producir interferencia, la cual no es predecible, por lo que de ninguna manera sería evidente combinar dos o más antígenos esperando una respuesta inmune satisfactoria para todos y cada uno de ellos.

Como consecuencia de todo lo anterior, se ha establecido claramente el Nivel Inventivo que conlleva la solicitud denegada frente al estado del arte más próximo.

#### **4. SOLICITUD:**

En vista de todo lo anterior, ruego a usted proceder a estudiar nuevamente la solicitud a la luz de las argumentaciones presentadas y revocar la Resolución impugnada para conceder el privilegio de patente solicitado.

#### **5. PODER:**

En este punto me permito mencionar ante este Despacho que el documento que acredita mi calidad de Representante Legal en Bogotá para asuntos relativos a la Propiedad Industrial de la sociedad peticionaria fue presentado en la solicitud original No. 03-088.387 con memorial de 21 de Octubre de 2004.

#### **6. ANEXOS:**

Anexo me permito presentar:

- i) Copia del documento: Vidor, E. *"The Nature and Consequences of Intra- and Inter-Vaccine Interference"* J.Comp. Path., Vol.137, S62-S66, 2007, referenciado en el texto; y
- ii) Copia de la presentación en la sesión de Pósteres del XXI ESPID, 2003, realizada por uno de los inventores de la solicitud de la referencia.

**JOSE LLORED A CAMACHO & CO.**

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

**7. DOMICILIO**

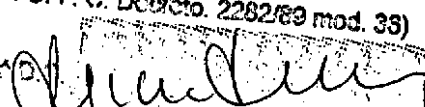
Mi dirección es Calle 72 No. 5-83, Piso 6º., Bogotá D.C., Colombia.

Del Señor Superintendente,

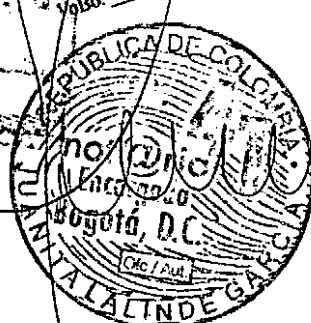
  
ALICIA LLORED A RICAURTE  
T. P. 53.215

NOTARIA 41 DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ D.C.  
DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA  
REPÚBLICA DE COLOMBIA

El Notario 41 del círculo de Bogotá, da fe de que compareció personalmente Alicia Lloreda Ricaurte  
Identificada (a) con: 39.690.713 y tarjeta  
profesional de abogado No. 53215 del Consejo  
Superior de la Judicatura, quien autentica la firma puesta por ella  
(el) mismo en este escrito.  
(Art. 84 C. P. C. Decreto. 2262/89 mod. 39)

  
ALICIA LLORED A RICAURTE  
C.C. No. 39.690.713 de Usaquén

07 FEB. 2011







# The Nature and Consequences of Intra- and Inter-Vaccine Interference

E. Vidor

*Sanofi Pasteur, Campus Mérieux, 1641 Avenue Marcel Mérieux, 69280 Marcy l'Etoile, France*

## Summary

Vaccine interference may be intra- or inter-vaccine in nature. Intra-vaccine interference is determined by the nature and dose of the individual vaccine valences, the nature and quality of any additives and the pharmaceutical formulation of the product. Additionally, vaccinee factors including the presence of pre-existing immunity, the stage of immunological maturation, genetic and environmental background may also determine interference. The vaccine schedule and mode of delivery are further contributory factors. In practice, the phenomenon of vaccine interference argues that individual vaccines should not be combined or associated in the absence of specific data sheet recommendations to do so.

© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** vaccine; valence; interference

## Introduction

Interference with the use of vaccines may result from any of a large range of mechanisms which are the subject of this overview. Discussion of vaccine interference necessitates first defining the terminology that it used in this field.

A vaccine valence is defined as an antigen (or a group of antigens, often also termed “components”) used to induce an immune response which protects against disease caused by one given pathogen. A valence comprised of a single antigenic entity is described as monocomponent and is exemplified by the tetanus toxoid or the Edmonston measles virus strain incorporated into tetanus or measles vaccines, respectively. A vaccine valence made up of a combination of several antigens is termed multicomponent, and examples of such valences include the acellular pertussis valence incorporating five proteins of *Bordetella pertussis* (PT, FHA, PRN, Fim2, Fim3), or the pneumococcal conjugate valence including seven polysaccharide–protein conjugates of *Streptococcus pneumoniae*, or the oral polio vaccine (OPV) made of the three Sabin poliovirus

strains (serotype 1, 2 and 3) used to protect against poliomyelitis.

A further distinction must be made between monovalent and multivalent vaccines. Monovalent vaccines protect against a single disease. They can be made of one monocomponent valence, such as the polysaccharide–protein-conjugated *Haemophilus influenzae* b (Hib) vaccine or the yellow fever vaccine; or they can be made of one multicomponent valence, such as OPV, the *Streptococcus pneumoniae* PS protein conjugated vaccine or the seasonal inter-pandemic influenza vaccine (made up of three different viral strains). Multivalent vaccines protect against several diseases, and they can comprise several monocomponent valences (e.g. the measles–mumps–rubella or MMR vaccine) or several mono- and/or multicomponent valences, such as the hexavalent DTaP-IPV-HepB-Hib vaccine used to protect against diphtheria, tetanus, pertussis, poliomyelitis, hepatitis B and Hib in infants (the so-called “paediatric combos”).

So by consequence, combination vaccines refer to multivalent vaccines that are formulated and presented either as ready-to-inject (liquid) vaccines containing all the individual valences in one container or as reconstitute-to-inject (liquid and lyophilized) vaccines

Correspondence to: E. Vidor (e-mail: [emmanuel.vidor@sanofi-pasteur.com](mailto:emmanuel.vidor@sanofi-pasteur.com)).

0021-9975/\$ - see front matter  
doi:10.1016/j.jcpa.2007.04.014

© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

where some valences are presented in liquid form in one vaccine container which is used to reconstitute a lyophilized pellet containing other valences presented in another vaccine container. Combination vaccines are administered into a single injection site. In contrast, vaccine association refers to simultaneous co-administration of more than one vaccine (which can themselves be either monovalent or multivalent) at more than one injection site.

Intra-vaccine interference is defined as the effect of one component of a given multivalent vaccine (comprised of components A and B) on the vaccinee's response to the other components of this multivalent vaccine. This effect is generally evaluated by comparing the responses obtained with the multivalent (combination) vaccine with either the co-administration of individual components at separate sites (A+B) or the successive (one or more months apart) administration of the individual components (A followed by B). By definition, only multivalent vaccines are prone to such effects.

By contrast, inter-vaccine interference is defined as the effect of one component of vaccine A (which can be monovalent or multivalent) on the vaccinee's response to vaccine B when the two vaccines (A and B) are co-administered simultaneously at separate sites, as compared with the sole administration of A or B. All types of vaccines may face such interference. In real life, these two types of interference co-exist, thereby complicating the analysis of the outcome of interference.

### Origin of Vaccine Interference

Several factors play a role in the occurrence of intra-vaccine interference. The most significant of these are product-related, including the nature of the valences (e.g. purified proteins, semi-purified toxoids, bacterial polysaccharide, protein-conjugated bacterial polysaccharide, inactivated purified whole virus, live-attenuated viral strains) incorporated in the vaccine. The antigen content for each given valence may also play a role, as does the quality and type of additives (e.g. adjuvant, preservative, stabilizer, pH and isotonicity adjusters) incorporated into the final formulation of the vaccine. Furthermore, the product presentation and the pharmaceutical form of each of the antigens (e.g. ready-to-inject liquid vaccine or reconstitute-to-inject vaccine) may influence the duration of contact between vaccine components prior to injection.

For multivalent vaccines made of inactivated antigens, a potential source of intra-vaccine interference (but also to a lesser extent of inter-vaccine interference) may arise from the fact that some valences may share common epitopes leading to the occurrence of the

epitopic modulating effect (so-called "immunological interference"). Another source of intra-vaccine interference in multivalent vaccines is represented by some excipients brought by one valence which may pharmaceutically interact with some other valences leading to unexpected performance of the resulting combination product.

For live-attenuated viral vaccines, a common source of intra- and inter-vaccine interference may be viral competition within (or between) monovalent vaccines made of one multi-strain valence, or within (or between) multivalent vaccines made of several single-strain valences. Some inter-vaccine interference may occur due to systemic effects provided by one vaccine on the performance of another vaccine co-administered at the same time and at another injection site.

In addition, vaccinee-related factors may play a role in the occurrence of vaccine interference. These include pre-existing immunity against one vaccine component (naturally acquired, passively acquired or vaccine-induced), immune responsiveness (immune maturation), genetic background and environment (past microbiological history). Finally, product-use-related factors, such as immunization schedule (number of doses, age at first dose, dosing interval, sequencing of valences), vaccine associations, the route of immunization, and administration techniques (e.g. anatomical site, injection practice, needle size, speed of injection) may also play a role in the occurrence of vaccine interference. As the process of vaccination requires a vaccine, a vaccinee and a mode of use for the product, it is clear that vaccine interference is a result of a multitude of inter-related factors which are very difficult to predict.

### Examples of Vaccine Interference

#### *Influence of Pre-Existing Immunity*

Vaccine interference may arise due to pre-existing immunity (acquired by natural infection or by passively transmitted maternal antibodies in infants) but this may be expressed in a variety of different ways. Interference may lead to a suppressive effect on antibody responses to subsequent vaccination, such as occurs with hepatitis A, tetanus, diphtheria, pertussis (whole cell vaccine, wCP), inactivated polio (IPV) or measles valences. Alternatively, pre-existing immunity may have no suppressive effect on antibody responses, such as occurs with the Hib PS-protein (Englund *et al.*, 1997) or pertussis (acellular vaccine, aP) valences. In some instances, pre-existing immunity may even have an enhancing effect on cell-mediated immune responses (e.g. to tetanus vaccine) (Rowe *et al.*, 2004). A further example is the negative influence of maternal

antibodies on the response to the live-attenuated measles vaccine administered to infants (Gans *et al.*, 1998). In this case, it has been clearly shown that the vaccinal response rate increases with decreasing concentration of maternally acquired measles antibodies with age. This example also illustrates the role of immune maturation acting as a confounding variable in this model, as shown by the increasing post-vaccination geometric mean titre (GMT) of antibody in children of increasing age when vaccination started in the presence or in the absence of maternal antibodies.

#### *Viral Competition*

Vaccine interference may also arise due to viral competition within or between live-attenuated vaccines. Such competition often occurs within multi-strain monovalent vaccines, within multivalent vaccines made of single-strain valences or with co-administration of live-attenuated vaccines sharing similar replicative tissues. Such interference often results in a decrease of the immune response to one or more of the administered strains.

The current effort to develop a Dengue vaccine is a good example of the effects of viral competition within a multi-strain live-attenuated monovalent vaccine. This vaccine contains four viral strains covering the four serotypes of the Dengue virus, so a balance must be found between the attenuation profile of each of the vaccinal strains, and the viral dosage in the vaccine formulation, in order to obtain an acceptable immune response against the four viral serotypes. This is illustrated by the results of a study (Kancsa-Thanan *et al.*, 2001) in which four monovalent Dengue vaccines were compared to a tetravalent formulation made of the same strains. The immune responses obtained with the monovalent vaccines were not reproduced when the tetravalent vaccine was used, with one serotype (Den-3) preferentially replicating over the other serotypes.

Vaccine combinations may also sometimes induce a better immune response than vaccine associations. In the case of a tetravalent MMR-V vaccine (against measles, mumps, rubella and varicella), White *et al.* (1997) showed that the immune response against varicella was lower following the administration of a vaccine combination (all-in-one injection) than of a vaccine association (whereby MMR and V vaccines were injected at the same time but at different sites). In another study, the administration of a tetravalent vaccine including varicella (MMR-V) given concomitantly with DTaP and OPV gave a lesser immune response than when varicella was given separately 6 weeks later (White *et al.*, 1997).

Interference can also occur in the case of viral competition by the co-administration of two live-attenuated viral vaccines that use the same tissue for replication. Migascna *et al.* (1995) showed that infants receiving concomitant OPV and rotavirus vaccination developed a weaker immune response against rotavirus when compared with infants that received IPV and rotavirus vaccination separately. This interference was mainly seen following the initial vaccination dose and progressively disappeared with successive administration of the vaccines. In parallel, polio antibody responses were slightly impaired (for polio type 1 & 2) in infants who received the two vaccines concomitantly, compared with infants who received OPV alone.

#### *Intra-Product Pharmaceutical Interactions*

Interference due to pharmaceutical interactions may occur within any given multivalent vaccine, and are often deleterious to some of the vaccine antigens administered. They are often triggered by additives, in particular, the adjuvants. This means that the effect of the adjuvant present in a given vaccine is an important factor to consider in the development of new multivalent vaccines when a new valence, generally not adjuvanted, is added to a multivalent vaccine.

The presence of an adjuvant may have a positive effect, as described by Meriste *et al.* (2006). In this study, a multivalent (DTacP-HBV-IPV) vaccine gave rise to higher geometric mean antibody titre against poliomyelitis than when DTacP-HBV vaccine and IPV vaccine (which is not adjuvanted) were administered simultaneously but at a separate site.

The nature (in terms of composition and notably the adjuvant) of the vaccine used to reconstitute a lyophilized vaccine (generally protein-conjugated bacterial PS vaccines) prior to injection may also create intravaccinal interference. The best known example is with Hib lyophilized vaccines. A study comparing post-primary series responses using one PRP-T vaccine and one DTacP-IPV vaccine showed that there was a clearly reduced antibody response to the PRP antigen following combined administration (the liquid DTacP-IPV vaccine reconstituting the lyophilized PRP-T vaccine) when compared with the association of these components (i.e. delivered to separate injection sites) (Halperin *et al.*, 1999). However, in another study, using the same study design and the same PRP-T vaccine but a different DTacP-IPV vaccine for reconstitution, no difference in antibody response to the PRP antigen was observed (Mills *et al.*, 1998). This difference in study outcomes might be explained by different physico-chemical interactions following extemporaneous mixing due to a different formulation of the liquid DTacP-IPV vaccines. For example, the different aluminium salts

(hydroxide and phosphate), used as adjuvant in these vaccines do not have the same properties in terms of adsorption capacities and chemical reactivity.

Finally, intra-product interference may also occur due to the preservative used in some vaccines, which may have a deleterious effect on a new antigen valence introduced into the existing vaccine. Sawyer *et al.* (1994) studied the evolution of the relative potencies of IPV over an 8 month period, in the presence of different concentrations of thimerosal brought by the DTP vaccine *versus* the 2-phenoxy-ethanol (PE)-preserved stand-alone IPV vaccine (used as a control). The study showed a rapid decrease of potency for the three polio serotypes, which was clearly associated with degradation of the main epitopes of the virus.

#### *Inter-Product Interferences due to Systemic Effects*

Sometimes, inter-product interference may occur due to systemic effects between co-administered vaccines. This is illustrated by the range of antibody responses obtained in several clinical trials performed in the USA with one given Hib vaccine (PRP-T) administered concomitantly with several DTwP vaccines *versus* the range of responses when this same Hib vaccine was administered in other clinical trials concomitantly with several DTaP vaccines (Vidor *et al.*, 2001). As the pertussis antigens contained in the wP-containing vaccines are known to provide some systemic non-specific immune-stimulating effects (due to residual levels of endotoxin and pertussis toxin), this may explain why the mean responses to the PRP antigen were lower in the studies where the Hib vaccine was administered concomitantly with DTaP vaccine, compared with the studies where the Hib vaccine was administered concomitantly with DTwP vaccine.

#### *Epitopic Modulating Effect*

Interference due to epitopic modulating effects is often unpredictable and complex. This phenomenon has been described when bacterial protein-conjugated polysaccharide (PS) valences are given in combination, or in association, with other vaccines containing bacterial toxoids. In this situation there is potential sharing of similar epitopes common to most of the protein carriers used for such protein-conjugated polysaccharide valences. As most bacterial PS conjugate vaccines use tetanus or diphtheria toxoids as carriers, this phenomenon is mainly described when bacterial PS-protein conjugated valences (e.g. Hib, *Meningococcus*, *Pneumococcus*) are combined or associated with the classical tetanus and/or diphtheria toxoid valences contained in the DTwP or DTaP vaccines. The chemistry of the polysaccharide to protein conjugation process is the key driver for the intrinsic immunogenicity of all PS-

protein conjugated antigens. It also explains their susceptibility to the epitopic modulating effect of co-administered proteins (the toxoids) sharing common epitopes with their protein carriers. The result of this epitopic modulating effect is variable.

Carrier-induced epitopic enhancement may be seen when bacterial PS-protein conjugated valences are administered sequentially, for example in subjects already primed against the same carrier protein. As an example of this phenomenon, when infants received a diphtheria, tetanus and whole-cell pertussis (DTwCP) dose 1 month prior to PRP-T vaccination, the anti-PRP response was much higher when compared with infants that received DTwCP and PRP-T at the same time (Kurikka, 1996).

By contrast, carrier-induced epitopic suppression can also occur, when these valences are combined or associated. For example, exposure to too much carrier protein at any one time may suppress the ability to respond to the polysaccharide antigen (the "carrier overload" effect). When studying the effect of the simultaneous administration of tetanus toxoid-containing vaccines, Dagan *et al.* (1998) found that different immune responses were elicited with different vaccine associations. For example, the response to Hib-PS antigen was much higher with the diphtheria-conjugated than with the tetanus-conjugated pneumococcal vaccine. Furthermore, in infants that received the tetanus-conjugated pneumococcal vaccine, a clear dose-effect was observed depending on the amount of pneumococcal antigen, and therefore the tetanus toxoid, administered. The higher the tetanus toxoid concentration, the lower the anti-PRP response observed. There was also a reduction in anti-tetanus responses.

#### **Consequences of Vaccine Interference**

From the examples previously reviewed and many others not presented, the main outcomes of these interferences can be summarized as follows. Interference due to pre-existing passive immunity is not a generic phenomenon. Suppressing effect on the antibody responses to hepatitis A, tetanus, diphtheria, pertussis (wP), IPV, and measles valences are often observed, whereas there is generally no suppressive effect on antibody response for Hib (protein-conjugated PRP) or pertussis (aP) valences. Some enhancement effect on cell-mediated immune responses may occur. Interference due to viral competition is often present with multi-strain monovalent vaccines, with multivalent vaccine made of single-strain valences or with co-administration of vaccines sharing similar replicative tissues. This interference generally decreases the immune response to one or more of the antigens administered. Interference due to pharmaceutical intra-product

interactions is also often deleterious. Interferences due to epitopic modulating effects are often unpredictable, complex and multifactorial.

All these sources of interference have consequences for the use of licensed vaccine products. The most important of these is the risk of obtaining sub-optimal immune responses due to off-label extemporaneous mixing (or reconstitution) or co-administration (association) of two vaccines when this is not recommended by the data sheet of the vaccines concerned. As each vaccine is unique, no generalization of extemporaneous combinations or associations can be inferred.

Vaccine interference also has consequences for the development of new vaccines, particularly in the scope of the increasingly crowded infant vaccination schedule. The design of the clinical studies contributing to the development programmes of these new vaccines is complex, based on non-inferiority designs, where all positive and negative effects must be documented, including both immunogenicity and safety. This has major consequences for the sample sizes needed for such trials. For example, in trials where 20 antigenic valences must be evaluated, it is not uncommon to enroll at least 1000 subjects per study arm.

### Conclusion

In conclusion, vaccine interference is the result of complex, multi-factorial interactions. Interference between polysaccharide-protein conjugated valences and toxoid valences when combined and/or associated are the main issues in the field of paediatric combination vaccination. Vaccine interference is not generic, and therefore not predictable. This limits and slows down the development of new vaccination solutions in the field of paediatric vaccination. From a practical perspective, all extemporaneous mixing of vaccines or vaccine associations not mentioned in the respective product data sheet is not recommended.

### References

- Dagan, R., Eskola, J., Leclerc, C. and Leroy, O. (1998). Reduced response to multiple vaccine sharing common protein epitopes that are administered simultaneously to infants. *Infection and Immunity*, **66**, 2093–2098.
- Englund, J. A., Glezen, W. P. and Thompson, C. (1997). Haemophilus influenzae type b-specific antibody in infants after maternal immunization. *Pediatric Infectious Diseases Journal*, **16**, 1122–1130.
- Gans, H. A., Arvin, A. M., Galinus, J., Logan, L., DeHovitz, R. and Maldonado, Y. (1998). Deficiency of the humoral immune response to measles vaccine in infants immunized at age 6 months. *Journal of the American Medical Association*, **280**, 527–532.
- Halperin, S. A., King, J., Law, B., Mills, E. and Willems, P. (1999). Safety and immunogenicity of *Haemophilus influenzae*-tetanus toxoid conjugate vaccine given separately or in combination with a three-component acellular pertussis vaccine combined with diphtheria and tetanus toxoids and inactivated poliovirus vaccine for the first four doses. *Clinical Infectious Diseases*, **28**, 995–1001.
- Kanasa-Thanan, N., Sun, W., Kim-Ahn, G., Van Albert, S., Putnak, J. R., King, A., Raengsakulrach, B., Christ-Schmidt, H., Gilson, K., Zahradnik, J. M., Vaughn, D. W., Innis, B. L., Saluzzo, J. F. and Hoke, C. H. (2001). Safety and immunogenicity of attenuated dengue virus vaccines (Aventis Pasteur) in human volunteers. *Vaccine*, **19**, 3179–3188.
- Kurikka, S. (1996). Priming with diphtheria-tetanus-pertussis vaccine enhances the response to the *Haemophilus influenzae* type b tetanus conjugate vaccine in infancy. *Vaccine*, **14**, 1239–1242.
- Meriste, S., Lutsar, I., Tamm, E. and Willems, P. (2006). Safety and immunogenicity of a primary course and booster dose of a combined diphtheria, tetanus, acellular pertussis, hepatitis B and inactivated poliovirus vaccine. *Scandinavian Journal of Infectious Disease*, **38**, 350–356.
- Migasena, S., Simasathien, S., Samakoses, R., Pitisuttitham, P., Sangaroon, P., van Steenis, G., Beuvery, E. C., Bugg, H., Bishop, R., Davidson, B. L. and Vesikari, T. (1995). Simultaneous administration of oral rhesus-human reassortant tetravalent (RRV-TV) rotavirus vaccine and oral poliovirus vaccine (OPV) in Thai infants. *Vaccine*, **13**, 168–174.
- Mills, E., Gold, R., Thippawong, J., Barreto, L., Guasparini, R., Meekison, W., Cuning, L., Russell, M., Harrison, D., Boyd, M. and Xie, F. (1998). Safety and immunogenicity of a combined five-component pertussis-diphtheria-tetanus-inactivated poliomyelitis-*Haemophilus B* conjugate vaccine administered to infants at two, four and six months of age. *Vaccine*, **16**, 576–585.
- Rowe, J., Poolman, J. T., Macaubas, C., Sly, P. D., Loh, R. and Holt, P. G. (2004). Enhancement of vaccine-specific cellular immunity in infants by passively acquired maternal antibodies. *Vaccine*, **22**, 3986–3992.
- Sawyer, L. A., McInnis, J., Patel, A., Horne, A. D. and Albrecht, P. (1994). Deleterious effect of thimerosal on the potency of inactivated poliovirus vaccine. *Vaccine*, **12**, 851–856.
- Vidor, E., Hoffenbach, A. and Fletcher, M. A. (2001). *Haemophilus influenzae* type b vaccine: reconstitution of lyophilised PRP-T vaccine with a pertussis-containing paediatric combination vaccine, or a change in the primary series immunisation schedule, may modify the serum anti-PRP antibody responses. *Current Medical Research and Opinion*, **17**, 197–209.
- White, C. J., Stinson, D., Staehle, B., Cho, I., Matthews, H., Ngai, A., Keller, P., Eiden, J. and Kuter, B. (1997). Measles, mumps, rubella, and varicella combination vaccine: safety and immunogenicity alone and in combination with other vaccines given to children. Measles, Mumps, Rubella, Varicella Vaccine Study Group. *Clinical Infectious Diseases*, **24**, 925–931.

**COMBINATION DIPHTHERIA-TETANUS-ACELLULAR PERTUSSIS-  
HEPATITIS B-INACTIVATED POLIO AND *HAEMOPHILUS*  
*INFLUENZAE* TYPE B-MENINGOCOCCAL C CONJUGATE VACCINE**

Schmitt HJ<sup>1</sup>, Leroux G<sup>2</sup>, Lebacqz E<sup>3</sup>, Sanger R<sup>4</sup>, Boutriau D<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Johannes Gutenberg University Mainz, Germany; <sup>2</sup> Laboratorium voor Klinische Biologie Gent, Belgium; <sup>3</sup> Clinique Notre-Dame de Grace La Louviere, Belgium;

<sup>4</sup> GlaxoSmithKline (GSK), Germany, <sup>5</sup> GSK Biologicals, Belgium.

**ABSTRACT**

**Background:** GSK developed a Hib-meningococcal C (Hib-MenC) vaccine to be administered in combination (extemporaneous mixing) with DTPa-HBV-IPV vaccine. The Hib-MenC vaccine consists of PRP-tetanus toxoid conjugate combined with a meningococcal polysaccharide C conjugated to a protein carrier (protein D from *H. influenzae*). Protein D (PD) may provide some protective efficacy against *H. influenzae* infections. Safety and immunogenicity of three candidate formulations of the DTPa-HBV-IPV/Hib-MenC (heptavalent) vaccine were compared to a control, the licensed DTPa-HBV-IPV/Hib vaccine.

**Methods:** Infants were given 1 of 3 formulations of the heptavalent vaccine or the control at 3, 4 and 5 months of age in a double-blind randomized trial. Safety and reactogenicity were assessed for 1 month after each dose. Immune responses were evaluated in blood samples taken before each dose and 1 month after dose 3.

**Results:** 500 infants received the heptavalent vaccine and 167 the control. The vaccines were well tolerated with no vaccine-related serious adverse events. The heptavalent vaccine induced high anti-PRP responses (93.0 – 96.4% with  $\geq 0.15$   $\mu\text{g/ml}$ ) with 1 formulation non-inferior to the control. Satisfactory anti-meningococcal responses were elicited by all three formulations with 100% subjects having anti-PSC IgG and 89.7– 94.2% with serum bactericidal antibody titres  $\geq 1:8$ . Seropositivity/protection rates for other vaccine components were comparable to the control.

**Conclusions:** The heptavalent vaccine appears to be a suitable combination vaccine for including meningococcal C conjugate with other routine childhood vaccines.

## INTRODUCTION

- Meningococcal serogroup C (MenC) conjugate vaccines have been licensed in many countries worldwide and their use in a mass vaccination campaign in the UK has confirmed their effectiveness in all age-groups. The combination of MenC with other childhood vaccines would help reduce the number of injections and facilitate the incorporation of the vaccine in routine immunization schedules. GSK Biologicals has therefore developed a *Haemophilus influenzae* type b-meningococcal serogroup C (Hib-MenC) conjugate vaccine to be administered in combination (extemporaneously mixed) with GSK Biologicals' DTPa-HBV-IPV vaccine.
- The Hib-MenC vaccine consists of the meningococcal C polysaccharide conjugated to protein D (PD) combined with a polyribosyl-ribitol phosphate (PRP) -tetanus toxoid (TT) conjugate. Protein D is the non-lipidated form of a 40 kD cell-surface lipoprotein of *H. influenzae*; it is highly conserved among capsulated and unencapsulated strains of *H. influenzae* and was selected as the protein carrier because it may, in itself, provide some protective efficacy against *H. influenzae* infections [1].
- The aim of the study was to compare the immunogenicity and reactogenicity of three different formulations GSK Biologicals' DTPa-HBV-IPV/Hib-MenC, heptavalent, vaccine with GSK Biologicals' DTPa-HBV-IPV/Hib vaccine, Infanrix™ Hexa vaccine when given as a 3-dose primary vaccination course at 3, 4 and 5 months of age. No meningococcal serogroup C conjugate vaccine was available at the time of the study.

## MATERIALS AND METHODS

### Study design

- Double-blind, randomized multi-centre study conducted in Belgium and Germany.
- Study population: healthy infants aged between 8 and 16 weeks at the time of first vaccination.
- Vaccination schedule: three injections with one month interval (at 3, 4 and 5 months of age); vaccines were injected intramuscularly into the thigh.

- Enrolled subjects were equally randomized into 4 parallel groups to receive one of the 3 formulations of the heptavalent vaccine or the control vaccine, Infanrix™ Hexa.
- The three different formulations of the heptavalent (Hepta), vaccine contained either non-adsorbed Hib-MenC or aluminium-adsorbed Hib-MenC<sub>ads</sub> combined with either the current formulation of GSK Biologicals' DTPa-HBV-IPV vaccine or a modified formulation (DTPa-HBV-IPV<sub>mod</sub>) as follows:
  - Hepta A: DTPa-HBV-IPV<sub>mod</sub>/Hib-MenC
  - Hepta B: DTPa-HBV-IPV/ Hib-MenC<sub>ads</sub>
  - Hepta C: DTPa-HBV-IPV/ Hib-MenC
- Diary cards (completed by the subjects' parents/guardians) were used to record:
  - Local solicited symptoms (pain, redness, swelling) and general solicited symptoms (fever, irritability/fussiness, drowsiness and loss of appetite) on the day of each vaccination and for 7 subsequent days
  - Unsolicited symptoms within 30 days after each vaccination
  - Serious adverse events during the whole study
- Blood samples were collected before each vaccination (each in a subset of subjects) and one month after dose 3 (all subjects). Immune responses were assessed using the following assays:

| Assay               | Antibody                                                                                  | Assay cut-off |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Bactericidal assay: | Anti-meningococcal serogroup C activity (SBA-MenC)                                        | 1:8           |
| ELISA:              | Anti-meningococcal polysaccharide C (PSC)                                                 | 0.30 µg/ml    |
|                     | Anti-PRP                                                                                  | 0.15 µg/ml    |
|                     | Anti-diphtheria (D), anti-tetanus (T)                                                     | 0.1 IU/ml     |
|                     | Anti-filamentous haemagglutinin (FHA),<br>anti-pertactin (PRN), anti-pertussis toxin (PT) | 5 EL.U/ml     |
|                     | Anti-hepatitis B surface antigen (HbsAg)                                                  | 10 mIU/ml     |
| Neutralization:     | Anti-polio types 1, 2 and 3                                                               | 1:8           |

*Notes*

For diphtheria, tetanus, HBsAg, PRP and polio: antibody concentrations/titers ≥ cut-off are considered protective.

For SBA-MenC, the 1:8 titre has been proposed as a serological correlate of protection [2, 3].

### **Analysis of immunogenicity and reactogenicity**

- Anti-PRP, SBA-MenC, anti-PSC, anti-PD, -HBs, -D, -T, -PT, -FHA, -PRN, and anti-polio 1, 2, 3 geometric mean concentrations/titres (GMTs/GMCs) and seropositivity rates/ seroprotection rates, each with 95% CI, were calculated.
- Computation of exact 90% CIs for the difference in seroprotection/ seropositivity rates for each antibody concentration/titre between the control and each of the heptavalent groups.  
The immune response to PRP was the primary endpoint: if, for one of the formulations (Hepta A, B or C), the upper limit of the 90% CI for the difference in proportion of subjects with anti-PRP concentration  $\geq 0.15 \mu\text{g/ml}$  was below 10%, non-inferiority was to be concluded.
- Incidences of symptoms (solicited local and general symptoms within 8 days after each dose and unsolicited symptoms within 31 days after each dose) with 95% CI were calculated.

## **RESULTS**

### **Demographics**

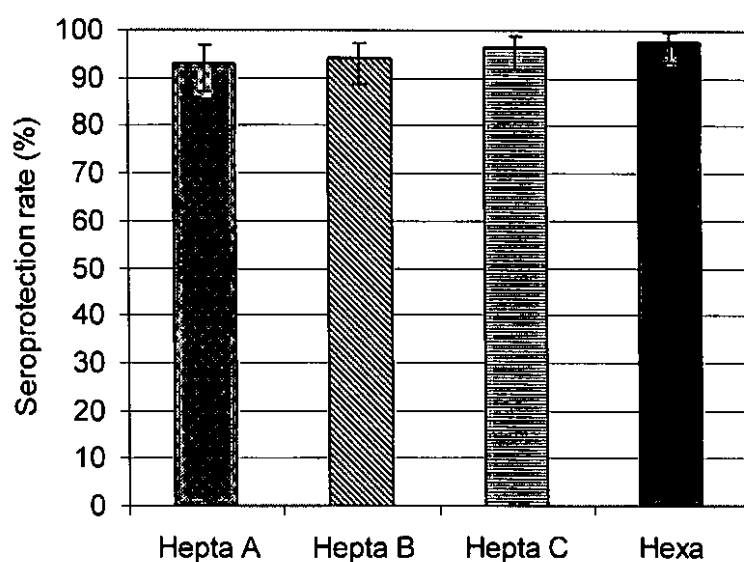
- 608 (Hepta A: 149, Hepta B: 154, Hepta C: 153, Hexa: 152) of the 667 enrolled subjects were included in the according-to-protocol (ATP) analysis of reactogenicity; their mean age at first vaccination was 12.1 weeks (range: 7-19 weeks).
- 553 of these subjects (Hepta A: 132, Hepta B: 145, Hepta C: 140, Hexa: 136) were eligible for inclusion in the ATP analysis of immunogenicity; their mean age at first vaccination was 12.0 weeks (range: 8-16 weeks). Not all subjects had results available for all antibodies.

### **Immunogenicity**

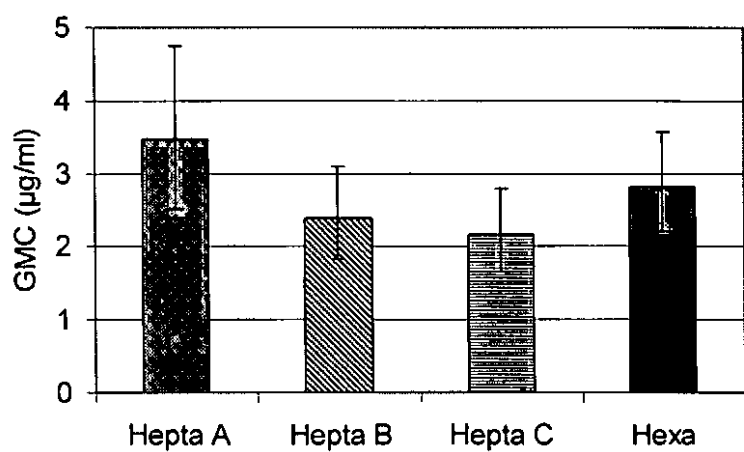
- All formulations of the heptavalent vaccine induced high anti-PRP seroprotection rates (concentrations  $\geq 0.15 \mu\text{g/ml}$ ) with the Hepta C formulation non-inferior to the control, Infanrix™ Hexa (Figure 1). Differences in anti-PRP seroprotection rates between groups [90% CI] were:

- Hexa - Hepta A: 4.78 [-1.37, 11.79]
  - Hexa - Hepta B: 3.58 [-1.95, 10.46]
  - Hexa - Hepta C: 1.37 [-3.88, 7.69]
- Anti-PRP GMCs elicited by the Hepta A formulation tended to be higher than for the other Hepta formulations or the control vaccine (Figure 2).
- Satisfactory anti-meningococcal responses were elicited by all three formulations (Figures 3 and 4) :
  - 89.7% – 94.2% with SBA-MenC titres  $\geq 1:8$
  - 100% seropositivity for anti-PSC
- Anti-PD seropositivity rates were  $\geq 89.4\%$  for all three formulations (Figure 5).
- Post dose 3 seroprotection/ seropositivity rates for HBs, diphtheria, tetanus, pertussis and polio components of all three heptavalent formulations were comparable to Infanrix™ Hexa (Figure 5): upper limits of the exact 90% CIs for the differences in seroprotection/ seropositivity rates were all below 10% (data not shown).

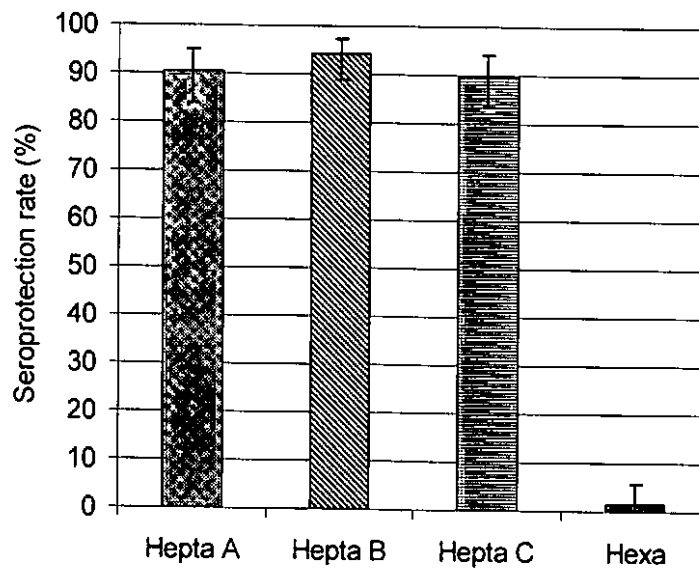
**Figure 1: Anti-PRP seroprotection rates after the third vaccine dose**



**Figure 2: Anti-PRP GMCs after the third vaccine dose**

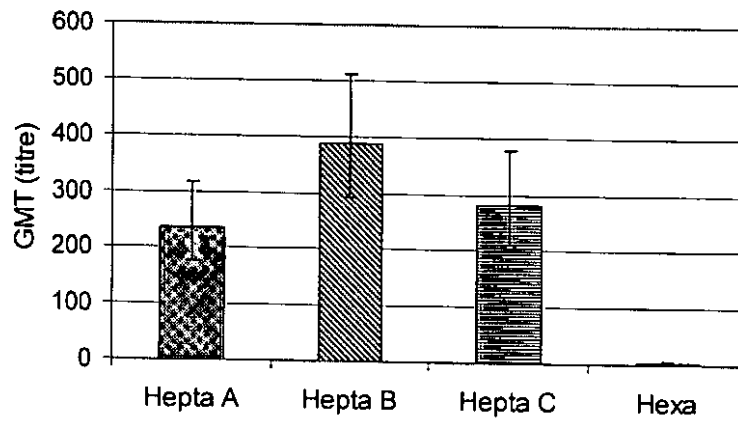


**Figure 3: SBA-MenC seroprotection rates after the third vaccine dose**



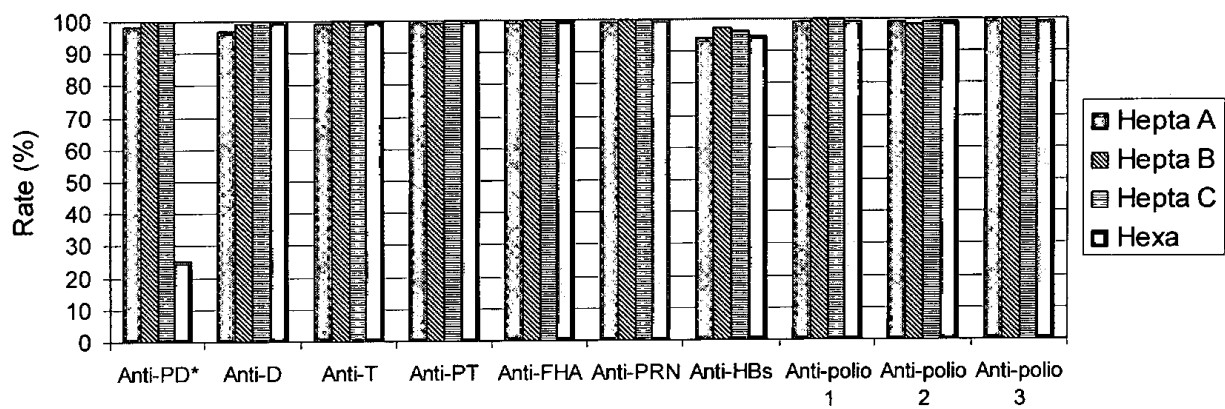
\* Infanrix™ Hexa contains no meningococcal polysaccharide C

**Figure 4: SBA-MenC GMTs after the third vaccine dose**



\* Infanrix™ Hexa contains no meningococcal polysaccharide C

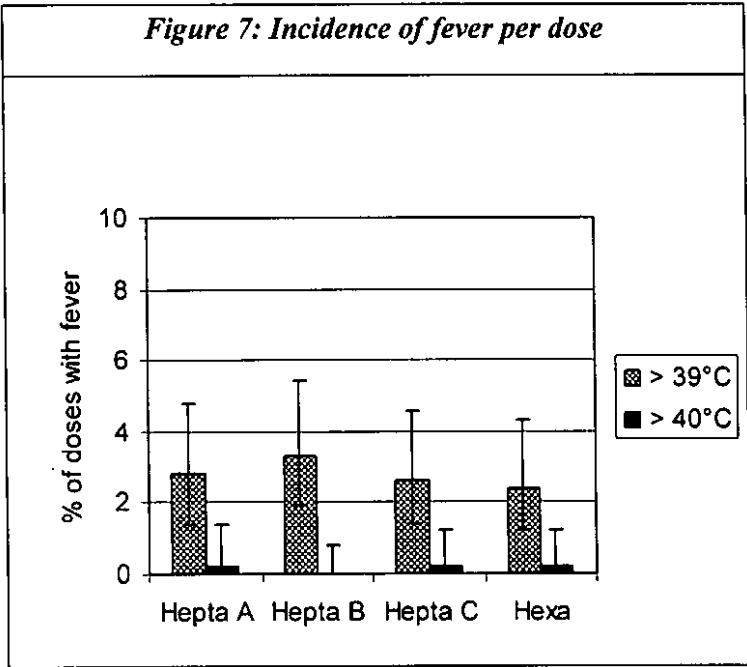
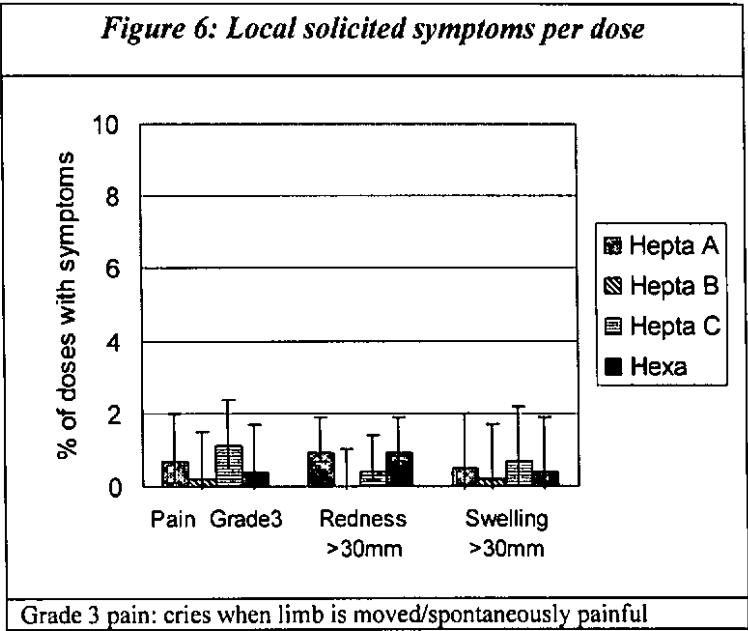
Figure 5: Seroprotection/seropositivity rates for other antibodies one month after the third vaccine dose



\* Infanrix Hexa contains no PSC or PD

## **Safety**

- Overall, there were no major differences between the groups in the incidences of any, general or local symptoms and there was no increase in reactogenicity from dose to dose (data not shown).
- The incidence of clinically relevant symptoms was low in all groups (Figures 6 and 7).
- No serious adverse event related to vaccination was reported.



## Conclusions

- In terms of anti-PRP responses ( $\geq 0.15 \mu\text{g/ml}$ ), one heptavalent formulation was non-inferior to Infanrix™ Hexa. All formulations elicited satisfactory meningococcal responses.
- The heptavalent vaccine was safe and well tolerated.
- The heptavalent vaccine appears to be a suitable combination vaccine for including meningococcal C conjugate with other routine childhood vaccines.

## References

1. Akkoyunlu MA, Ruan M, Forsgren A. Distribution of protein D, an immunoglobulin D-binding protein, in *Haemophilus influenzae* strains. *Infection and Immunity* 1991; 59: 1231-1238.
2. Miller E *et al.* Update on meningococcal C conjugate vaccination programme in England and Wales: coverage, herd immunity, vaccine efficacy, and validation of serological correlates. In 13th International Pathogenic Neisseria Conference, 1-6 Sept 2002, abstract book p 60.
3. Trotter C *et al.* Seroprevalence of meningococcal serogroup C bactericidal antibody in England and Wales in the pre-vaccination era. *Vaccine* 2003;21:1094-1098.