

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 384 065**

(51) Int. Cl.:

A61K 39/385 (2006.01)

A61K 39/295 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **08153847 .2**

(96) Fecha de presentación: **28.03.2002**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1946772**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **23.07.2008**

(54) Título: **Composición de vacuna multivalente**

(30) Prioridad:

03.04.2001 GB 0108364

(73) Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.
RUE DE L'INSTITUT, 89
1330 RIXENSART, BE**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
29.06.2012

(72) Inventor/es:

**Boutriau, Dominique;
Capiau, Carine;
Desmons, Pierre Michel;
Lemoine, Dominique y
Poolman, Jan**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
29.06.2012

(74) Agente/Representante:

Carpintero López, Mario

ES 2 384 065 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición de vacuna multivalente

La presente invención se refiere a nuevas formulaciones de vacuna de combinación. Las vacunas de combinación (que proporcionan protección contra múltiples patógenos) son muy deseables para minimizar el número de inmunizaciones requerido para conferir protección frente a múltiples patógenos, para reducir los costes de administración y para aumentar las tasas de aceptación y cobertura. El fenómeno bien documentado de la competición antigénica (o interferencia) complica el desarrollo de vacunas multicomponentes. La interferencia antigénica se refiere a la observación de que la administración de múltiples antígenos con frecuencia da como resultado una respuesta reducida a ciertos antígenos en relación con la respuesta inmune observada cuando tales antígenos se administran de forma individual.

Se conocen vacunas de combinación que pueden prevenir *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, y opcionalmente virus de Hepatitis B y/o *Haemophilus influenzae* tipo b (véase, por ejemplo, documentos WO 93/24148, WO 97/00697 y WO 99/48525). Se menciona una vacuna pentavalente DTPa-IPV/Hib en Andre (1999), Vaccine, 17: 1620-1627, mientras que Poolman y col (2001), Vaccine, 19:2280-2285 y el documento WO 99/13906, desvelan vacunas hexavalentes DTPa-IPV-HBV/Hib. Se ha indicado la coadministración de vacunas basas en DTP multivalentes (pero no DTPa-IPV-HBV) con vacunas que contienen antígenos neumocócicos (pn), por ejemplo, Shinefield y col (1999), The Pediatric Infectious Disease Journal, 18(9): 757-763 (DTPw-Hib + virus de la polio oral (OPV) + pn heptavalente o *N. meningitidis* tipo C (MenC); Rennels y col (1998), Pediatrics, 101(4): 604-611 y Daum y col (1997), The Journal of Infectious Diseases, 176(2): 445-455 (DTPw-Hib + OPV + pn hepta- o pentavalente); Eskola y col (2001), The New England Journal of Medicine, 344 (6): 403-409 (DTPw-Hib + pn heptavalente (+ IPV, coadministrándose solamente la segunda dosis del mismo con (la cuarta dosis de) las otras vacunas); Dagan y col (1998), Infection and Immunity, 66(5), 2093-2098 (DTP/Hib o DTP-IPV/Hib + pn tetravalente) y; Choo y col (2000), The Journal of Infectious Diseases, 182(4): 1260-1263 (DTPw/Hib + pn heptavalente o DTPw + pn heptavalente/Hib).

La presente divulgación se refiere a la fabricación de las vacunas multivalentes más ambiciosas hasta la fecha, la administración de las cuales pueden evitar o tratar infección por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de Hepatitis B y *N. meningitidis* y preferentemente también *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, virus de Hepatitis A y/o virus de la Polio, en las que los componentes de la vacuna no interfieren significativamente con el rendimiento inmunológico de un componente cualquiera de la vacuna.

En consecuencia, un aspecto de la divulgación es una composición inmunogénica multivalente para conferir protección en un huésped contra enfermedad provocada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de Hepatitis B, virus de la Polio y *N. meningitidis* que comprenden:

- (a) célula completa muerta de *Bordetella pertussis* (Pw) o dos o más componentes de pertussis acelulares (Pa) [preferentemente lo segundo],
- (b) toxoide del tétanos (TT o T),
- (c) toxoide diftérico (DT o D),
- (d) el antígeno de superficie de hepatitis b (HepB o HB),
- (e) virus de la polio inactivado (IPV), y
- (f) uno o ambos de los conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* de tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* de tipo C (MenC), y
- (g) opcionalmente un conjugado de una proteína vehículo y el polisacárido capsular de *H. influenzae* tipo B (Hib).

La composición inmunogénica anterior puede comprender adicionalmente uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis componentes seleccionados de la siguiente lista: polisacárido de *N. meningitidis* de tipo A [MenA] (preferentemente conjugado), polisacárido de *N. meningitidis* de tipo W [MenW] (preferentemente conjugado), el polisacárido Vi de vesículas de membrana exterior de *Salmonella typhi*, *N. meningitidis* (preferentemente serotipo B) una o más proteínas de membrana exterior (expuestas en superficie) de *N. meningitidis* (preferentemente serotipo B) y virus de Hepatitis A atenuados, muertos (HepA – preferentemente el producido conocido como "Havrix"™ [SmithKline Beecham Biologicals]) sin problemas de interferencia sustanciales para cualquiera de los antígenos de la composición.

La invención proporciona diversos kits ventajosos que comprenden dos o tres composiciones inmunogénicas multivalentes, siendo capaces dichos kits de conferir protección en un huésped contra enfermedad provocada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de Hepatitis B, virus de la Polio y *Streptococcus pneumoniae*, y opcionalmente también *N. meningitidis* y *Haemophilus influenzae*.

En una primera realización de la invención se proporciona un kit que comprende dos composiciones inmunogénicas multivalentes para conferir protección en un huésped contra enfermedad provocada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de Hepatitis B, virus de la Polio y *Streptococcus pneumoniae*, y opcionalmente también *N. meningitidis* y *Haemophilus influenzae*.

El kit comprende un primer recipiente que comprende:

- (a) componentes de pertussis acelulares (Pa) que comprenden toxoide de pertussis y FHA,
- (b) toxoide del tétanos (TT o T),
- (c) toxoide diftérico (DT o D),
- 5 (d) antígeno de superficie de Hepatitis B (HepB o HB), y
- (e) virus de la polio inactivado (IPV),

y un segundo recipiente que comprende:

- (2a) uno o más conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de *Streptococcus pneumoniae* [cuando el polisacárido capsular es preferentemente de un serotipo neumocócico seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 10 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F];

y en el que el primer recipiente comprende un contenido de DT de 60-120 µg y el segundo recipiente comprende uno o más polisacáridos u oligosacáridos conjugados con DT y/o CRM197.

En realizaciones ventajosas adicionales del kit anterior de la invención, el primer recipiente comprende adicionalmente: (f) uno o ambos conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* de tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* de tipo C (MenC) y (g) un conjugado de una proteína vehículo y el polisacárido u oligosacárido capsular de *H. influenzae* de tipo B (Hib); o el segundo recipiente comprende adicionalmente: (2b) uno o ambos conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* de tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* de tipo C (MenC) y (2c) un conjugado de una proteína vehículo y el polisacárido u oligosacárido capsular de *H. influenzae* de tipo B (Hib); o el primer recipiente comprende adicionalmente: (f) uno o ambos conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* de tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* de tipo C (MenC) y el segundo recipiente comprende adicionalmente (2b) un conjugado de una proteína vehículo y el polisacárido u oligosacárido capsular de *H. influenzae* de tipo B (Hib); o el primer recipiente comprende adicionalmente (f) un conjugado de una proteína vehículo y el polisacárido u oligosacárido capsular de *H. influenzae* de tipo B (Hib) y el segundo recipiente comprende adicionalmente: (2b) uno o ambos conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* de tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* de tipo C (MenC).

Se desvela en el presente documento un kit que comprende dos composiciones inmunogénicas multivalentes para conferir protección en un huésped contra enfermedad provocada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de Hepatitis B, virus de la Polio, *N. meningitidis* y *Haemophilus influenzae*.

El kit comprende un primer recipiente que comprende:

- (a) célula completa muerta de *Bordetella pertussis* (Pw) o dos o más componentes de pertussis acelulares (Pa) [preferentemente lo segundo],
- 35 (b) toxoide del tétanos (TT o T),
- (c) toxoide diftérico (DT o D),
- (d) antígeno de superficie de Hepatitis B (HepB o HB), y
- (e) virus de la polio inactivado (IPV),

y un segundo recipiente que comprende:

- 40 (2a) uno o ambos de los conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* de tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* de tipo C (MenC), y
- (2b) un conjugado de una proteína vehículo y el polisacárido capsular de *H. influenzae* de tipo B (Hib).

En una segunda realización de la invención se proporciona un kit que comprende tres composiciones inmunogénicas multivalentes para conferir protección en un huésped contra enfermedad provocada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de Hepatitis B, virus de la Polio y *N. meningitidis*, *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*.

El kit comprende un primer recipiente que comprende:

- (a) componentes de pertussis acelulares (Pa) que comprenden toxoide de pertussis y FHA,
- (b) toxoide del tétanos (TT o T),
- 50 (c) toxoide diftérico (DT o D),
- (d) antígeno de superficie de Hepatitis B (HepB o HB), y
- (e) virus de la polio inactivado (IPV),

y un segundo recipiente que comprende:

- (2a) uno o más conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de

Streptococcus pneumoniae [en el que el polisacárido capsular es preferentemente de un serotipo neumocócico seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F];

5 y en el que el primer recipiente comprende un contenido de DT de 60-120 µg y el segundo recipiente comprende uno o más polisacáridos u oligosacáridos conjugados con DT y/o CRM 197,

y un tercer recipiente que comprende:

(3a) uno o ambos de los conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* de tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* de tipo C (MenC), y

10 (3b) un conjugado de una proteína vehículo y el polisacárido u oligosacárido capsular de *H. influenzae* tipo B (Hib).

Cualquiera de los recipientes anteriores de los kits anteriores de la invención puede comprender adicionalmente uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete componentes seleccionados de la siguiente lista: polisacárido de *N. meningitidis* de tipo A [MenA] (preferentemente conjugado), polisacárido de *N. meningitidis* de tipo W [MenW] (preferentemente conjugado), el polisacárido Vi de vesículas de membrana exterior de *Salmonella typhi*, *N. meningitidis* (preferentemente serotipo B), una o más proteínas de membrana exterior (expuestas en superficie) de *N. meningitidis* (preferentemente serotipo B), HepA (como se ha descrito anteriormente) y una o más proteínas de *S. pneumoniae* (preferentemente expuestas en superficie) sin problemas de interferencia sustanciales para ninguno de los antígenos de la composición.

20 Los recipientes del kit pueden envasarse por separado o, preferentemente, envasarse juntos. Preferentemente el kit se proporciona con una lista de instrucciones se proporciona con una lista de instrucciones para administración de las vacunas en los dos o más recipientes.

Cuando un recipiente en un kit contiene un cierto conjugado polisacárido, se prefiere que el mismo conjugado no esté presente en los otros recipientes del kit.

25 Los inventores han descubierto sorprendentemente que un kit proporcionado de las maneras anteriores presenta ventajosamente los diversos antígenos para el sistema inmune de un huésped de una manera óptima. El kit proporciona a un facultativo médico un procedimiento óptimo para inmunizar un huésped con una o más de las siguientes ventajas (preferentemente 2 ó 3, y más preferentemente todas): eficacia protectora para todos los antígenos, reactogenicidad mínima, interferencia de supresión de vehículo mínima, interferencia de adyuvante/antígeno mínima o interferencia de antígeno/antígeno mínima. De tal modo, estos objetivos pueden conseguirse con el mínimo número (dos) de administraciones, que se producen preferentemente en la misma visita al facultativo.

30 Las vacunas del primer y segundo (y tercero cuando sea aplicable) recipientes deben administrarse de forma conjunta en diferentes sitios (como se describe posteriormente). (En una realización desvelada, alternativa los inventores prevén que los contenidos del primer y segundo recipientes puedan mezclarse (preferentemente de forma extemporánea) antes de la administración como una vacuna sencilla).

Los antígenos de la invención

35 Se conocen bien en la técnica procedimientos para preparar toxoide del tétanos (TT). Por ejemplo, se produce TT preferentemente por purificación de la toxina de un cultivo de *Clostridium tetani* seguido de detoxificación química, pero se prepara como alternativa por purificación de un análogo recombinante o genéticamente detoxificado de la toxina (por ejemplo, como se describe en el documento EP 209281). El "toxoide del tétanos" también abarca fragmentos inmunogénicos de la proteína de longitud completa (por ejemplo Fragmento C – véase documento EP 478602).

40 También se conocen bien en la técnica procedimientos para preparar toxoide diftérico (DT). Por ejemplo, DT se produce preferentemente por purificación de la toxina de un cultivo de *Corynebacterium diphtheriae* seguido de detoxificación química, pero se realiza como alternativa por purificación de un análogo recombinante o genéticamente detoxificado de la toxina (por ejemplo, CRM 197), u otros mutantes como se describen en los documentos US 4.709.017, US 5.843.711, US 5.601.827 y US 5.917.017).

45 Se conocen bien en la técnica componentes de pertussis acelulares (Pa). Los ejemplos incluyen toxoide de pertussis (PT), hemaglutinina filamentosa (FHA), pertactina (PRN) y aglutinógenos 2 y 3. Estos antígenos están parcial o altamente purificados. Preferentemente se usan 2 o más componentes de pertussis acelulares en la vacuna. Más preferentemente se incorporan 2, 3, 4 o los 5 de los componentes de pertussis acelulares del ejemplo anterior en la vacuna. Más preferentemente se incluyen PT, FHA y PRN. PT puede producirse de una diversidad maneras, por ejemplo por purificación de la toxina de un cultivo de *B. pertussis* seguido de detoxificación química, o como alternativa por purificación de un análogo genéticamente detoxificado de PT (por ejemplo, como se describe en el documento US 5.085.862).

Se desvelan procedimientos para preparar células completas muertas de *Bordetella pertussis* (Pw) adecuadas para la presente invención en el documento WO 93/21148, así como procedimientos de formulación adecuados para producir vacunas DT-TT-Pw-HepB y DT-TT-Pa-HepB.

5 El Virus de la Polio inactivado (IPV) preferentemente comprende los tipos 1, 2 y 3 como es convencional en la técnica de vacunas. Más preferentemente es la vacuna de la polio de Salk.

Típicamente, la vacuna de *Streptococcus pneumoniae* de la presente invención comprenderá antígenos polisacáridos (preferentemente conjugados), en los que los polisacáridos derivan de al menos cuatro serotipos de neumocosos seleccionados del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F. Preferentemente los cuatro serotipos incluyen 6B, 14, 19F y 23F. Más preferentemente, se incluyen al menos 7 serotipos en la composición, por ejemplo los derivados de los serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F. Más preferentemente se incluyen aún más de 7 serotipos en la composición, por ejemplo al menos 11 serotipos. Por ejemplo, la composición en una realización incluye 11 polisacáridos capsulares derivados de los serotipos 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F (preferentemente conjugados). En una realización preferida de la invención se incluyen al menos 13 antígenos polisacáridos (preferentemente conjugados), aunque también se contemplan antígenos polisacáridos adicionales, por ejemplo 23 serotipos (tales como los serotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F), por la invención.

20 Para vacunación de personas mayores (por ejemplo para la prevención de pneumonía) es ventajoso incluir serotipos 8 y 12F (y más preferentemente 15 y 22 también) en la composición antigenica de 11 serotipos preferida descrita anteriormente para formar una vacuna de 13/15 serotipos, mientras que para lactantes o niños en edad de empezar a caminar (los que preocupa más la otitis media) se incluyen ventajosamente serotipos 6A y 19A para formar una vacuna de 13 serotipos.

Conjugados

25 Los conjugados de polisacáridos capsulares bacterianos pueden comprender cualquier péptido, polipéptido o proteína vehículo que comprenda al menos un epítopo auxiliar T. Preferentemente la proteína o proteínas vehículo usadas se seleccionan del grupo que comprende: toxoide del tétanos, toxoide diftérico, CRM197, toxina diftérica recombinante (como se describe en cualquiera de los documentos US 4.709.017, WO 93/25210, WO 95/33481 o WO 00/48638), pneumolisina (preferentemente clínicamente detoxificada o un mutante detoxificado) de *S. pneumoniae*, OMPC de *N. meningitidis* y proteína D de *H. influenzae* (documento EP 594610). Debido al efecto conocido de supresión de vehículo, es ventajoso si en cada una de las composiciones de la invención los antígenos polisacáridos contenidos en las mismas ("n" antígenos) se conjugan con más de un vehículo. Por lo tanto podrían transportarse (n-1) de los polisacáridos (por separado) en un tipo de vehículo y 1 en un vehículo diferente o (n-2) en uno y 2 en dos vehículos diferentes, etc. Por ejemplo, en una vacuna que contiene 4 conjugados de polisacáridos bacterianos, 1, 2 o los cuatro podrían conjugarse con diferentes vehículos. La proteína D, sin embargo, se usa ventajosamente como un vehículo en las composiciones de la invención puesto que puede usarse para diversos (2, 3, 4 o más) polisacáridos en una composición sin un efecto de supresión de vehículo notable. Más preferentemente, Hib está presente como un conjugado de TT, los polisacáridos neumocócicos son conjugados de proteína D, DT o CRM197, y MenA, MenC, MenY y MenW son conjugados de TT o PD. La proteína D también es un vehículo útil puesto que proporciona un antígeno adicional que puede proporcionar protección frente a *H. influenzae*.

40 El polisacárido puede ligarse a la proteína vehículo por cualquier procedimiento conocido (por ejemplo, por Likhite, Patente de Estados Unidos 4.372.945 y por Armor y col., Patente de Estados Unidos 4.474.757). Preferentemente, se lleva a cabo conjugación de CDAP (documento WO 95/08348).

45 En CDAP, el reactivo de cianilación 1-ciano-dimetilaminopiridinio tetrafluoroborato (CDAP) se usa preferentemente para la síntesis de conjugados de polisacárido-proteína. La reacción de cianilación puede realizarse en condiciones relativamente suaves, que evitan la hidrólisis de los polisacáridos sensibles a agentes alcalinos. Esta síntesis permite el acoplamiento directo con una proteína vehículo.

Propiedades de las composiciones inmunogénicas de la invención

50 Las composiciones inmunogénicas de los kits de la invención se formulan preferentemente como una vacuna para administración *in vivo* al huésped de tal modo que los componentes individuales de la composición se formulen de modo que la inmunogenicidad de los componentes individuales no se perjudique sustancialmente por otros componentes individuales de la composición. Por no sustancialmente perjudicada, se entiende que tras la inmunización, se obtiene una titulación de anticuerpo (por ejemplo IgG) contra cada componente que es más del 60 %, preferentemente más del 70 %, preferentemente más del 80 %, aun más preferentemente más del 90 % y más preferentemente más del 95-100 % de la titulación obtenida cuando el antígeno se administra aislado.

55 Resulta interesante que con las combinaciones de kit descritas anteriormente, es posible, tras inmunización, obtener titulaciones de anticuerpo frente a polisacárido capsular Hib o algunos polisacáridos neumocócicos que se acerquen, o excedan, 100 % de la titulación obtenida cuando el antígeno se administra aislado.

Formulaciones de vacuna

Las composiciones inmunogénicas de los kits de la invención se formulan preferentemente como una vacuna para administración *in vivo* al huésped, de modo que confieran una titulación de anticuerpo superior al criterio para seroprotección para cada componente antigeno para un porcentaje aceptable de sujetos humanos. Este es un

5 ensayo importante en la evaluación de la eficacia de una vacuna en toda la población. Se conocen bien antígenos con una titulación de anticuerpo asociada por encima de la cual se considera que un huésped se ha seroconvertido contra el antígeno, y tales titulaciones se publican por organizaciones tales como la OMS. Preferentemente más del 80 % de una muestra estadísticamente significativa de sujetos se seroconvierte, más preferentemente más del 90 %, aun más preferentemente más del 93 % y más preferentemente 96-100 %.

10 Las composiciones inmunogénicas de los kits de la invención preferentemente tienen adyuvantes. Los adyuvantes adecuados incluyen una sal de aluminio tal como gel de hidróxido de aluminio (alumbre) o fosfato de aluminio, pero también puede ser una sal de calcio, hierro o cinc, o puede ser una suspensión insoluble de tirosina acilada o azúcares acilados, polisacáridos derivatizados catiónica o aniónicamente o polifosfacenos.

15 El adyuvante también puede seleccionarse para ser un inductor preferente de un tipo de respuesta TH1 para ayudar a la rama de la respuesta inmune mediada por células.

Los altos niveles de citocinas de tipo Th1 tienden a favorecer la inducción de respuestas inmunes mediadas por células a un antígeno dado, mientras que los niveles altos de citocinas de tipo Th2 tienden a favorecer la inducción de respuestas inmunes humorales al antígeno.

20 Los sistemas de adyuvante adecuados que promueven una respuesta predominantemente Th1 incluyen, Monofosforil lípido A o un derivado del mismo, particularmente monofosforil lípido A 3-des-O-acilado y una combinación de monofosforil lípido A, preferentemente monofosforil lípido A 3-des-O-acilado (3D-MPL) junto con una sal de aluminio. Un sistema potenciado implica la combinación de un monofosforil lípido A y un derivado de saponina, particularmente la combinación de QS21 y 3D-MPL como se desvela en el documento WO 94/00153, o una composición menos reactogénica en la que QS21 se inactiva con colesterol como se desvela en el documento 25 WO 96/33739. Se describe una formulación de adyuvante particularmente potente que implica QS21, 3D-MPL y tocopherol en una emulsión de aceite en agua en el documento WO 95/17210. La vacuna puede comprender adicionalmente una saponina, más preferentemente QS21. La formulación también puede comprender una emulsión de aceite en agua y tocopherol (documento WO95/17210). Los oligonucleótidos que contienen CpG no metilado 30 (documento WO 96/02555) también son inductores preferentes de una respuesta TH1 y son adecuados para su uso en la presente invención.

35 Las sales de aluminio son adyuvantes preferidos en las composiciones inmunogénicas anteriores. En particular, HepB debería adsorberse preferentemente en fosfato de aluminio antes de mezclar con los otros componentes. Se adsorbe preferentemente pertactina en hidróxido de aluminio antes de mezclar con los otros componentes. Para minimizar los niveles de adyuvante (particularmente sales de aluminio) en las composiciones de la invención, los conjugados de polisacárido pueden estar sin adyuvantes.

Se desvela en el presente documento un procedimiento para producir una formulación de vacuna que comprende la etapa de mezclar los componentes de la vacuna junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

40 Una composición de DTPa particularmente preferida (para su uso como los contenidos del primer recipiente de uno de los kits anteriormente descritos) comprende: TT, DT, Pa (preferentemente que comprende PT, FHA y PRN, con PRN preferentemente adsorbido en hidróxido de aluminio), HepB (preferentemente adsorbido en fosfato de aluminio), IPV, MenC (preferentemente conjugado con una de las proteínas D, TT, DT o CRM197) y, opcionalmente, MenY (preferentemente conjugado con una de las proteínas D, TT, DT o CRM197). La composición también puede comprender opcionalmente Hib (preferentemente conjugado con TT y/o no adsorbido en adyuvante). Preferentemente la vacuna puede proporcionarse en 2 frascos, contenido el primero DTPa-IPV-HepB en una forma líquida, y contenido un segundo MenC (y opcionalmente MenY y/o Hib) en una forma liofilizada, preferentemente en presencia de un agente antiapelmazante tal como sacarosa, lactosa o trehalosa. Los contenidos de los frascos pueden mezclarse de forma extemporánea en un recipiente sencillo antes de administración a un huésped en una inyección/administración sencilla. Esta composición puede usarse en un kit descrito anteriormente (los contenidos del primer recipiente).

45 50 Para el fin de kits que comprenden un recipiente que comprende Hib (preferentemente conjugado con TT y/o no adsorbido en adyuvante) y/o uno o ambos de MenC y MenY (preferentemente conjugado con una de las proteínas D, TT, DT o CRM197 y/o no adsorbido en adyuvante), esta composición se almacena preferentemente en una forma liofilizada, preferentemente en presencia de agente antiapelmazante tal como sacarosa, lactosa o trehalosa.

55 Para el fin de composiciones de DTPa (para su uso como los contenidos del primer recipiente de uno de los kits descritos anteriormente) que comprenden un recipiente que comprende DTPa y Hib y/o uno o ambos de MenC y MenY, cuando los componentes Hib y/o Men están conjugados con TT, es preferible equilibrar el contenido de TT en la vacuna de modo que el contenido total de TT en un recipiente sencillo no sea mayor que un umbral crítico (tal como 40, 45, 50, 60, 70 u 80 µg de TT) para reducir, minimizar o prevenir la interferencia inmune de TT o supresión

- de vehículo de polisacáridos conjugados con TT. Preferentemente este umbral es de 50 µg. Los inventores han descubierto que la relación de polisacárido:TT puede reducirse en los conjugados anteriores a 1:0,5-1,5 en peso (preferentemente 1: 0,6-1,2, más preferentemente aproximadamente 1:1) para ser beneficioso a este respecto. Por ejemplo en una vacuna de DTPa-HB-IPV-Hib(TT)-MenC(TT) la cantidad de T en DTPa debería reducirse preferentemente por debajo de una cantidad convencional típica (preferentemente aproximadamente de uno a tres cuartos, más preferentemente la mitad de la cantidad regular) hasta, por ejemplo, 10-30 µg de TT, preferentemente 20-25 µg de TT. Por ejemplo, si la cantidad de TT conjugado con Hib es de aproximadamente 12 µg de TT y la cantidad conjugada con MenC es de aproximadamente 5 µg de TT y la cantidad de TT no conjugado es de 24 µg, entonces el TT total será aproximadamente 41 µg.
- Una composición de polisacáridos neumocócicos/Hib particularmente preferida (para su uso como los contenidos del segundo recipiente de uno de los kits anteriormente descritos) comprende: Hib (preferentemente conjugado con TT y/o no adsorbido en adyuvante) y múltiples (por ejemplo más de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10 u 11) conjugados de polisacáridos neumocócicos (por ejemplo las combinaciones descritas en el párrafo sobre "la vacuna de *Streptococcus pneumoniae* de la presente invención" anterior). Más preferentemente se incluyen polisacáridos (de los serotipos 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F). Preferentemente se conjugan polisacáridos neumocócicos con PD, DT, CRM197 o TT. En una realización preferida, el antígeno de polisacárido Hib no se adsorbe en un adyuvante, particularmente sales de aluminio. Aunque el antígeno o los antígenos de polisacáridos neumocócicos pueden tener adyuvantes (preferentemente fosfato de aluminio), también pueden estar no adsorbidos en un adyuvante, particularmente sales de aluminio. En una realización particular, no hay sal adyuvante de aluminio presente en la composición. Pueden incluirse antígenos adicionales en las composiciones de la invención (por ejemplo, conjugado de polisacárido capsular de *N. meningitidis* de Tipo C [preferentemente conjugado con una de las proteínas D, TT, DT o CRM197 y/o no adsorbido en adyuvante]), sin embargo, en una realización alternativa, Hib y los conjugados de polisacáridos neumocócicos son los únicos antígenos presentes en la composición. En una realización específica adicional de las formulaciones anteriores, los polisacáridos neumocócicos y Hib no están conjugados con el mismo vehículo (particularmente cuando el vehículo es CRM 197).
- La vacuna puede proporcionarse en un recipiente (con los contenidos en una forma líquida o liofilizada), o en dos frascos, conteniendo el primero Hib (preferentemente liofilizado), conteniendo el segundo los antígenos neumocócicos (preferentemente en una forma líquida). Las composiciones liofilizadas están preferentemente en presencia de un agente antiapelmazante tal como sacarosa, lactosa o trehalosa. Los contenidos de los frascos pueden mezclarse de forma extemporánea en un recipiente sencillo antes de administrar a un huésped en una administración/inyección sencilla. Con una formulación tal, es posible, tras la inmunización, obtener titulaciones de anticuerpo frente a polisacárido capsular Hib que se acercan a, o más frecuentemente exceden, 100 % de la titulación obtenida cuando el antígeno se administra aislado. En realizaciones preferidas, no aparece efecto (significativamente) perjudicial en los conjugados de polisacáridos neumocócicos (con respecto a eficacia protectora) en la combinación en comparación con su administración aislados. Esto puede evaluarse con respecto a medición de la media geométrica de las concentraciones (GMC) posprimaria del anticuerpo antipolisacáridos 1 mes después de la última dosis primaria (siendo las dosis primarias las administraciones de sensibilización, habitualmente 3, en el primer año de vida). La GMC (en µg/ml) para una vacuna de la invención debería ser preferentemente más del 55 % (más preferentemente más del 60, 70, 80 ó 90 %) de la GMC cuando los polisacáridos neumocócicos se administran sin el conjugado de Hib. Otro indicio de que no se ha producido efecto perjudicial es si el porcentaje de sujetos con concentraciones de anticuerpo de no menos de 0,5 µg/ml difiere en no más del 10 % (preferentemente menos de 9, 7, 5, 3 ó 1 %) cuando se comparan las administraciones posprimarias de 1 mes de la vacuna de la invención frente a la vacuna sin conjugado de Hib.
- Aunque lo anterior se refiere a "polisacáridos" Hib, neumocócicos y meningocócicos, se prevé que la invención pueda extenderse a "polisacáridos de tamaño ajustado" y "oligosacáridos" Hib y neumocócicos (polisacáridos con tamaño reducido para ser más manejables, que aún son capaces de inducir una respuesta inmune protectora en un huésped) que se conocen bien en la técnica de las vacunas (véase por ejemplo el documento EP 497525). Ventajosamente, MenY puede estar presente como un conjugado de oligosacárido con el oligosacárido de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8 ó 0,9 veces el peso molecular del polisacárido nativo.
- En un aspecto adicional de la presente divulgación se proporciona una composición inmunogénica o vacuna como se describe en el presente documento para su uso en un medicamento.
- Un aspecto adicional es el uso de las composiciones inmunogénicas desveladas en la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedad provocadas por infección por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de Hepatitis B, virus de la Polio y *N. meningitidis* (y opcionalmente *H. influenzae*). Además, se desvela un uso de las composiciones inmunogénicas desveladas en la preparación de un kit de vacuna para el tratamiento o prevención de enfermedades provocadas por infección por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de Hepatitis B, virus de la Polio, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *N. meningitidis*.

Se desvela adicionalmente un procedimiento para inmunizar un huésped humano frente a enfermedad provocada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de Hepatitis B, virus de la Polio y *N.*

meningitidis (y opcionalmente *H. influenzae*), comprendiendo dicho procedimiento administrar al huésped una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica desvelada.

Un aspecto adicional de la divulgación se refiere a un procedimiento para inmunizar a un huésped humano contra enfermedad provocada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de Hepatitis B y virus de la Polio y uno o más de *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *N. meningitidis*, con los kits de la invención descritos anteriormente, implicando dicho procedimiento un programa de administración conjunta como se define posteriormente.

Programa de administración conjunta

Un programa tal comprende la etapa de administrar a un huésped una dosis inmunoprotectora de una composición inmunogénica de un primer recipiente de un kit (por ejemplo uno de los kits de la invención) en un sitio diferente drenado por un ganglio linfático diferente del sitio al que se administra la composición inmunogénica del segundo (o tercer) recipiente del kit. Preferentemente los sitios diferentes son extremidades diferentes. Preferentemente la administración de las vacunas se produce en un periodo de 24 horas entre sí, más preferentemente en el mismo día y más preferentemente en la misma visita del huésped al facultativo. Preferentemente se sensibiliza al huésped posteriormente con ambas (o todas) las vacunas de la misma manera una o más (preferentemente 2) veces adicionales, cada vez separada por 2-12 semanas (preferentemente aproximadamente 1 mes). Con frecuencia puede proporcionarse una tercera administración de sensibilización entre 2 semanas y 7 meses después de la segunda administración. Por ejemplo, la vacuna puede administrarse como anteriormente de acuerdo con un programa de administración normal para vacunas de DTP (tal como un sistema de tres visitas, cada visita separada por 1 mes, por ejemplo un programa de 3, 4 y 5 meses de edad; o un programa de 3, 5 y 11; o de 3, 5 y 12 meses de edad). Un programa de administración tal permite la optimización de la respuesta inmune contra los antígenos en ambos (o todos) los recipientes del kit.

Puede proporcionarse una administración de refuerzo de las vacunas de la misma manera en cualquier momento desde el segundo año de vida hasta la edad adulta. Aunque la sensibilización se realiza preferentemente mediante la vía intramuscular, el refuerzo puede llevarse a cabo ventajosamente por vía mucosa, opcionalmente en presencia de un adyuvante de mucosa (preferentemente laureth 9 o Toxina Lábil por Calor [LT] de *E. coli* y mutantes o fragmentos de los mismos) (por ejemplo, la administración intranasal de las vacunas es fácil de administrar y puede funcionar extremadamente bien especialmente cuando el huésped se sensibiliza por vía parenteral) y no es necesario que el sitio de administración de las vacunas se drene por diferentes ganglios linfáticos.

También se desvela el uso de las composiciones inmunogénicas desveladas dentro de recipientes en un procedimiento para preparar un kit de vacuna de la invención para administración conjunta.

Kits que comprenden TT en dos o más recipientes

Un aspecto adicional de la divulgación se refiere a kits de vacuna para administración conjunta (como se ha definido anteriormente) en la que el contenido de TT de dos o más recipientes se equilibra para reducir, minimizar o evitar ventajosamente interferencia inmune de TT o supresión de vehículo de polisacáridos conjugados con TT. TT es un vehículo extremadamente bueno, sin embargo se sabe que tiene limitaciones si se usa en exceso en una composición de vacuna, particularmente si también está presente TT libre. Si se usa excesivamente, todos los antígenos conjugados con TT muestran titulaciones de anticuerpo reducidas. Hay por lo tanto un problema claro en la técnica para cómo usar TT en muchas áreas diferentes (por ejemplo, antígeno libre y como vehículo para muchos antígenos de polisacáridos) dentro de una vacuna de combinación grande sin las desventajas anteriores. Los presentes inventores han descubierto un procedimiento óptimo para resolver este problema; que usando un programa de administración conjunta del kit (como se ha definido anteriormente), puede administrarse una vacuna en un primer recipiente que comprende TT en una cantidad no mayor que un umbral crítico en el que se produce interferencia inmune o supresión de vehículo con una vacuna en un segundo (y opcionalmente tercero) recipiente que comprende TT en una cantidad no mayor que un umbral crítico en el que se produce interferencia inmune o supresión de vehículo de modo que la cantidad total de TT administrado conjuntamente está por encima de este umbral crítico y se minimiza la interferencia inmune (o supresión de vehículo) (es decir, es menor que si los componentes se hubieran administrado en una inyección) y preferentemente no se produce en absoluto. El umbral crítico puede ser 40, 45, 50, 60, 70 u 80 µg de TT, y es preferentemente de aproximadamente 50 µg de TT. El TT total máximo que puede administrarse es por lo tanto de aproximadamente hasta una cantidad derivada del número de recipientes del kit (dos o tres) multiplicado por el umbral crítico.

Por lo tanto, se desvela en el presente documento un kit que comprende dos (o tres) recipientes que comprenden dos (o tres) composiciones inmunogénicas para administración conjunta comprendiendo cada una TT en una forma libre y/o conjugada, en el que la cantidad de TT en cada recipiente no es mayor que un umbral crítico para evitar o minimizar los efectos de interferencia inmune de TT (o supresión de vehículo), pero el TT total en todos los recipientes es mayor que dicho umbral crítico.

Preferentemente, al menos uno de los recipientes debería incluir TT libre (no conjugado), más preferentemente en el contexto de una vacuna multivalente DTPa o DTPw. Aunque la cantidad de TT libre puede estar presente a niveles

aproximadamente normales de aproximadamente 42 µg, una ventaja adicional del kit desvelado permite que estén presentes cantidades más bajas (10-30 ó 10-20 µg, por ejemplo, 10, 15, 20, 25 ó 30 µg) pero aún pueden inducirse titulaciones de anticuerpo anti-TT óptimas con efectos de supresión de vehículo o interferencia inmune mínimos (o ninguno).

5 Preferentemente, al menos uno (pero posiblemente 2 ó 3) de los recipientes debería incluir al menos un (pero posiblemente 2, 3, 4, 5, 6, 7 o más) polisacárido conjugado con TT. Cuando TT libre está presente en un recipiente, se prefiere que al menos un polisacárido conjugado con TT deba estar en uno de los otros recipientes del kit. El polisacárido puede ser cualquiera descrito en la presente solicitud, preferentemente uno o más polisacáridos neumocócicos (como se ha descrito anteriormente), o MenC, MenY o Hib.

10 Preferentemente, el kit es cualquiera de los kits de la invención como se han descrito anteriormente.

Preferentemente, uno, dos, tres o todos los conjugados de TT-polisacárido presentes en el kit son tales que la relación de polisacárido:TT se reduce (en comparación con conjugados convencionales) a 1:0,5-1,5 en peso (preferentemente 1:0,6-1,2, más preferentemente aproximadamente 1:1) de modo que los conjugados aún sean inmunológicamente funcionales, pero se facilita la minimización o prevención de los efectos de supresión de vehículo o interferencia inmune de TT.

15 Se desvela adicionalmente un procedimiento para inmunizar un huésped humano usando el kit anterior, comprendiendo dicho procedimiento administrar una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica del primer recipiente al huésped en un primer sitio, administrar una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica del segundo recipiente al huésped en un segundo sitio (y opcionalmente administrar una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica del tercer recipiente al huésped en un tercer sitio), en el que el primer y segundo (y tercer) sitios se drenan por diferentes ganglios linfáticos.

20 La administración conjunta debería llevarse a cabo como se ha descrito anteriormente. Preferentemente el primer y segundo (y tercer) sitios representan diferentes extremidades del huésped. Preferentemente la administración de las composiciones inmunogénicas del primer y segundo (y tercer) recipientes se producen el mismo día. Preferentemente el huésped se vacuna posteriormente de la misma manera una o más veces adicionales, cada vez separada por 2-12 semanas, más preferentemente dos veces adicionales, cada vez separada por aproximadamente un periodo de 1-2 meses.

Kits que comprenden DT o CRM197 en dos o más recipientes

25 Un aspecto adicional de la divulgación se refiere a kits de vacuna para administración conjunta (como se ha definido anteriormente) en los que el contenido de DT (incluyendo DT y cualquier mutante inmunológicamente idéntico tal como CRM197) de dos o más recipientes se equilibra ventajosamente para potenciar titulaciones de anticuerpo de polisacárido conjugado con DT (o CRM197) minimizando a la vez la reactogenicidad (es decir, reactogenicidad más baja que si los componentes de los recipientes se administraran en una inyección sencilla). DT y CRM197 son vehículos extremadamente buenos, sin embargo se sabe que DT contribuye en gran medida a la reactogenicidad de vacunas que lo contienen. Los presentes inventores han descubierto que usando un programa de administración conjunta de kit (como se ha definido anteriormente), una vacuna en un primer recipiente que comprende DT (y/o CRM197) está ventajosamente presente en una cantidad alta (40-150 µg, preferentemente 60-120 µg, más preferentemente 70-100 µg, más preferentemente aproximadamente 95 µg) cuando una vacuna en un segundo (y opcionalmente tercero) recipiente que comprende un polisacárido conjugado con DT o CRM197 se administra de forma conjunta.

30 Las ventajas son que a) aunque el contenido del DT es alto en el primer recipiente no es suficientemente alto para inducir efectos de supresión de vehículo o interferencia inmune de DT, b) el conjugado de polisacárido con DT o CRM-197 se separa del primer recipiente de modo que la reactogenicidad de la vacuna del primer recipiente no aumenta, pero c) la titulación de anticuerpo contra el polisacárido conjugado con DT o CRM 197 no se reduce y puede potenciarse (titulaciones mayores en comparación con cuando el conjugado se administra por separado, o en comparación con cuando están presentes cantidades más bajas de DT en el primer recipiente).

35 La presente invención proporciona por lo tanto un kit que comprende dos (o tres) recipientes que comprenden dos (o tres) composiciones inmunogénicas para administración conjunta (como se ha definido anteriormente), en el que el primer recipiente comprende un contenido de DT (DT más CRM197; preferentemente libre o no conjugado) de 60-120 µg, y el segundo (y tercero) recipientes comprenden uno o más polisacáridos u oligosacáridos conjugados con DT y/o CRM197.

40 Preferentemente el primer recipiente debería incluir DT libre (no conjugado), más preferentemente en el contexto de una vacuna de DTPa o DTPw multivalente.

45 El polisacárido o los polisacáridos conjugados con DT/CRM197 puede ser cualquiera descrito en la presente solicitud; preferentemente uno o más de la siguiente lista: polisacáridos neumocócicos 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F o 33F, MenC, MenY o Hib. Preferentemente de acuerdo con la presente invención la respuesta inmune (titulaciones de anticuerpo) frente a uno o más de estos

polisacáridos se mantiene en comparación con la administración del conjugado por sí solo, y más preferentemente se potencia.

Preferentemente el kit es cualquiera de los kits de la invención como se ha descrito anteriormente.

Preferentemente uno, dos, tres o todos los conjugados de polisacárido-DT (o CRM197) presentes en el kit son tales que la relación de polisacárido:DT/CRM197 se reduce (en comparación con conjugados convencionales) a 1:0,5-1,5 en peso (preferentemente 1:0,6-1,2, más preferentemente aproximadamente 1:1).

Se desvela adicionalmente un procedimiento para inmunizar un huésped humano usando el kit anterior, comprendiendo dicho procedimiento administrar una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica del primer recipiente al huésped en un primer sitio, administrar una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica del segundo recipiente al huésped en un segundo sitio (y opcionalmente administrar una dosis inmunoprotectora de la composición inmunogénica del tercer recipiente al huésped en un tercer sitio), estando el primer y segundo (tercer) sitios drenados por diferentes ganglios linfáticos.

La administración conjunta debería llevarse a cabo como se ha descrito anteriormente. Preferentemente el primer y segundo (y tercer) sitios representan diferentes extremidades de huésped. Preferentemente la administración de las composiciones inmunogénicas del primer y segundo y (tercer) recipientes se produce el mismo día. Preferentemente el huésped se vacuna posteriormente de la misma manera una o más veces adicionales, cada vez separada por 2-12 semanas, más preferentemente dos veces adicionales, cada vez separadas por aproximadamente un periodo de 1-2 meses.

Las preparaciones de vacuna de la presente invención pueden usarse para proteger o tratar a un mamífero susceptible de infección, por medio de administración de dicha vacuna mediante vía sistémica o mucosa. Estas administraciones pueden incluir inyección mediante las vías intramuscular, intraperitoneal, intradérmica o subcutánea; o mediante administración mucosa a los tractos oral/alimentario, respiratorio (por ejemplo intranasal), genitourinario.

La cantidad de antígeno en cada dosis de vacuna se selecciona como una cantidad que induce una respuesta inmunoprotectora sin efectos secundarios significativos, adversos en vacunas típicas. Tal vacuna variará dependiendo de qué inmunógeno específico se emplee y cómo se presente. Generalmente, se espera que cada dosis comprenda 0,1-100 µg de polisacárido, preferentemente 0,1-50 µg, preferentemente 0,1-10 µg, de los cuales 1 a 5 µg es el intervalo más preferible.

El contenido de antígenos proteicos en la vacuna típicamente estará en el intervalo de 1-100 µg, preferentemente 5-50 µg, más típicamente en el intervalo de 5-25 µg.

Después de una vacunación inicial, los sujetos pueden recibir una o varias inmunizaciones de refuerzo adecuadamente espaciadas.

Se describe preparación de vacuna en general en Vaccine Design ("The subunit and adjuvant approach" (eds Powell M.F. & Newman M.J.) (1995) Plenum Press Nueva York). Se describe encapsulación dentro de liposomas en Fullerton, Patente de Estados Unidos 4.235.877.

Ejemplos

Se proporcionan ejemplos solamente para los fines de ilustración y no se pretende que limiten el alcance de la invención.

Ejemplo 1: Preparación de una vacuna DT-TT-Pa-IPV-HepB (DTPaIPVHepB)

Ésta se realizó como se describe en el documento WO 93/24148. La vacuna está disponible en el mercado con el nombre Infanrix-PeNTa™ (SmithKline Beecham Biologicals).

Ejemplo 2: Preparación de una vacuna MenC o MenC-MenY

MenC: Polisacárido capsular de *N. meningitidis* de tipo C conjugado con proteína D o TT (usando la técnica de CDAP) presente en una cantidad de 5 µg de polisacárido en el conjugado por 0,5 ml de dosis humana. El pH se ajustó a 6,1 y se liofilizó en presencia de sacarosa.

MenCMen Y: Polisacárido capsular de *N. meningitidis* de tipo C conjugado en proteína D o TT (usando la técnica de CDAP) y polisacárido capsular de *N. meningitidis* de tipo Y conjugado con proteína D o TT se mezclaron juntos en una cantidad de 5 µg de polisacárido en cada conjugado por 0,5 ml de dosis humana. El pH se ajustó a 6,1 y se liofilizó en presencia de sacarosa.

Ejemplo 3: Preparación de una vacuna DT-TT-Pa-IPV-HepB-MenC-MenY (DTPaIPVHepB/MenCMenY) o una DT-TT-Pa-IPVHepB-MenC (DTPaIPVHepB/MenC)

Las vacunas del Ejemplo 1 y el Ejemplo se mezclaron de forma extemporánea (el mismo día) antes de su uso.

Ejemplo 4: Preparación de una vacuna de conjugado neumocócico de 11 serotipos Hib (Hib/Strep11V)

- 5 Se disolvió de forma extemporánea (el mismo día de su uso) polisacárido capsular de *H. influenzae* de tipo b conjugado con TT (10 µg de polisacárido en el conjugado por dosis) que se había liofilizado a un pH de 6,1 en presencia de lactosa [Hiberix™ (SmithKline Beecham Biologicals)] en una solución líquida de polisacárido capsular neumocócico de once serotipos (serotipos 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F) conjugado con PD (1 µg de polisacárido en cada conjugado por dosis). La vacuna neumocócica se había adsorbido previamente en 0,5 mg de Al³⁺ (como AlPO₄).
- 10

Ejemplo 5: Ensayos clínicos

Estudios sobre la vacuna del Ejemplo 4

La vacuna del Ejemplo 4 y una vacuna de control se administraron en un programa de tres dosis (3, 4, 5 meses de edad) a lactantes alemanes.

- 15 Los resultados de respuesta inmune (medidos 1 mes después de la última administración primaria) fueron como sigue.

Anticuerpos anti-IgG neumocócica: GMC (µg/ml) (por Elisa)

Anticuerpo PS	Tiempo	Grupo A			Grupo D		
		N	S+[%]	GMC	N	S+[%]	GMC
Anti-1	PIII	30	100	1,23	33	100	0,99
Anti-3	PIII	30	100	2,04	33	97,0	1,20
Anti-4	PIII	30	100	0,98	33	100	1,03
Anti-5	PIII	30	100	1,33	33	100	1,34
Anti-6B	PIII	30	100	0,54	33	100	0,62
Anti-7F	PIII	30	100	1,60	33	100	1,33
Anti-9V	PIII	30	100	1,61	33	100	1,21
Anti-14	PIII	30	100	2,27	33	100	2,32
Anti-18C	PIII	30	100	1,06	33	100	1,04
Anti-19F	PIII	30	100	2,05	33	100	1,92
Anti-23F	PIII	30	96,7	0,75	33	100	0,76
Grupo A = 11Pn-PD + Infanrix-HeXa™ (Infanrix-Penta más conjugado de Hib añadido - DTPa-HB-IPV-Hib) Grupo D = 11Pn-PD/Hib + Infanrix-PeNTa™ (DTPa-HB-IPV) + indica administración conjunta (en diferentes extremidades) en lugar de combinada.							

Porcentaje de sujetos con concentraciones de anticuerpos no menores de 0,5 µg/ml

grupo	PS 1	3	4	5	6B	7F	7V	14	18C	19F	23F
D	84,8	87,9	87,9	90,9	51,5	90,9	93,9	97,0	81,8	97,0	72,7
A	86,7	96,7	76,7	90,0	50,0	93,3	90,0	90,0	80,0	96,7	66,7

Anticuerpos Anti PRP: GMC ($\mu\text{g}/\text{ml}$) (por Elisa)

		Grupo D (N = 34)		
	n	≥ 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ [%]	GMC [$\mu\text{g}/\text{ml}$]	
Anti-PRP	PIII	33	100	10,75
100 % de los sujetos tuvieron concentraciones de anticuerpo anti-PRP (polisacárido Hib) no menores de 1,0 ng/ml.				

Hiberix (conjugado de Hib-TT no adsorbido) tiene una GMC después de un programa de administración similar de aproximadamente 6 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

- 5 La respuesta inmune, con respecto a anticuerpos de ELISA, de lactantes que recibieron la vacuna 11Pn-PD/Hib fue similar a la observada para los que recibieron la vacuna 11Pn-PD para todos los serotipos, con la excepción de los serotipos 1, 3 y 9V para los que se observó una tendencia a menores medias geométricas de las concentraciones para la vacuna 11Pn-PD/Hib. Sin embargo, estas diferencias no fueron significativas como se muestran por el solapamiento de intervalos de confianza al 95 %.
- 10 La vacuna 11Pn-PD/Hib indujo anticuerpos funcionales (opsonofagocíticos) para los 11 serotipos.

La combinación de la vacuna de Hib con la vacuna de conjugado neumocócico no interfirió significativamente con la respuesta inmune neumocócica y sorprendentemente potenció la respuesta anti-PRP en comparación con las vacunas registradas tanto Infanrix-HeXa como Hiberix.

Estudios sobre las vacunas del Ejemplo 3, o la administración conjunta de las vacunas del Ejemplo 3 y del Ejemplo 4

- 15 Estudio 1:
Puede evaluarse la seguridad e inmunogenicidad vacuna de Infanrix-PeNTa mezclada con conjugado de MenC proporcionada con una vacuna de Hib o conjuntamente con una vacuna neumocócica de 11 serotipos mezclada con Hiberix. Pueden evaluarse vehículos tanto de PD como de TT para el conjugado de MenC. Las vacunas pueden administrarse como una vacuna de tres dosis en lactantes. La inyección conjunta puede ser en extremidades diferentes, administrada en la misma visita al facultativo.

- 20 Estudio 2:
Puede evaluarse de la seguridad e inmunogenicidad de vacuna Infanrix-PeNTa mezclada con conjugado de MenC-MenY proporcionada con una vacuna de Hib o conjuntamente con vacuna neumocócica de 11 serotipos mezclada con Hiberix. Puede evaluarse el vehículo tanto de PD como de TT para los conjugados de MenC y MenY. Las vacunas pueden administrarse como una vacuna de tres dosis en lactantes. La inyección conjunta puede ser en diferentes extremidades, administrada en la misma visita al facultativo.

REIVINDICACIONES

1. Un kit de vacuna para administración conjunta que comprende dos composiciones inmunogénicas multivalentes para conferir protección en un huésped contra enfermedad provocada por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, virus de Hepatitis B, virus de la Polio y *Streptococcus pneumoniae*, comprendiendo dicho kit un primer recipiente que comprende:
- (a) componentes de pertussis acelulares que comprenden toxoide de pertussis y FHA,
 (b) toxoide del tétanos (TT),
 (c) toxoide diftérico (DT),
 (d) antígeno de superficie de Hepatitis B, y
 (e) virus de la polio inactivado,
- 10 y un segundo recipiente que comprende:
- (2a) uno o más conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de *Streptococcus pneumoniae*, y en el que el primer recipiente comprende un contenido de DT de 60-120 µg, y el segundo recipiente comprende uno o más polisacáridos u oligosacáridos conjugados con DT y/o CRM197.
- 15 2. El kit de vacuna de la reivindicación 1 en el que el primer recipiente comprende un contenido de DT de 70-100 µg.
3. El kit de vacuna de la reivindicación 1 o 2, en el que el o los polisacáridos u oligosacáridos conjugados con DT y/o CRM197 se seleccionan de una lista que consiste en los polisacáridos u oligosacáridos neumocócicos 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F, polisacáridos u oligosacáridos meningocócicos MenC y MenY, y *H. influenzae* de tipo b Hib.
- 20 4. El kit de vacuna de las reivindicaciones 1-3, en el que el segundo recipiente comprende o consiste en siete polisacáridos u oligosacáridos neumocócicos derivados de los serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F que se conjugan con CRM197
5. El kit de vacuna de las reivindicaciones 1-4 en el que uno o más de los polisacáridos u oligosacáridos conjugados con DT y/o CRM197 tienen una relación de polisacárido u oligosacárido:DT o CRM197 de 1:0,5-1,5 en peso.
- 25 6. El kit de vacuna de las reivindicaciones 1-5, en el que el o los conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de *Streptococcus pneumoniae* deriva de uno o más serotipos neumocócicos seleccionados del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F.
- 30 7. El kit de vacuna de las reivindicaciones 1-6, en el que el antígeno de superficie de Hepatitis B se adsorbe en fosfato de aluminio.
8. El kit de vacuna de las reivindicaciones 1-7, en el que el primer recipiente comprende adicionalmente: (f) uno o ambos conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* de tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* de tipo C (MenC), y (g) un conjugado de una proteína vehículo y el polisacárido u oligosacárido capsular de *H. influenzae* de tipo B (Hib).
- 35 9. El kit de vacuna de las reivindicaciones 1-7, en el que el primer recipiente comprende adicionalmente: (2b) uno o ambos conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* de tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* de tipo C (MenC) y (2c) un conjugado de una proteína vehículo y el polisacárido u oligosacárido capsular de *H. influenzae* de tipo B (Hib).
- 40 10. El kit de vacuna de las reivindicaciones 1-7, en el que el primer recipiente comprende adicionalmente: (f) uno o ambos conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* de tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* de tipo C (MenC), y el segundo recipiente comprende adicionalmente (2b) un conjugado de una proteína vehículo y el polisacárido u oligosacárido capsular de *H. influenzae* de tipo B (Hib).
- 45 11. El kit de vacuna de las reivindicaciones 1-7, en el que el primer recipiente comprende adicionalmente (f) un conjugado de una proteína vehículo y el polisacárido u oligosacárido capsular de *H. influenzae* de tipo B (Hib), y el segundo recipiente comprende adicionalmente: (2b) uno o ambos conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* de tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* de tipo C (MenC).
- 50 12. El kit de vacuna de las reivindicaciones 1-7, que comprende adicionalmente un tercer recipiente que comprende: (3a) uno o ambos conjugados de una proteína vehículo y un polisacárido u oligosacárido capsular de una bacteria seleccionada del grupo *N. meningitidis* de tipo Y (MenY) y *N. meningitidis* de tipo C (MenC) y (3b) un conjugado de una proteína vehículo y el polisacárido u oligosacárido capsular de *H. influenzae* de tipo B (Hib).

13. El kit de vacuna de las reivindicaciones 1-12 en el que dos o más recipientes comprenden TT, no siendo la cantidad de TT en cada uno de dichos dos o más recipientes mayor que un umbral crítico de 50 µg de TT para evitar o minimizar efectos de supresión de vehículo o interferencia inmune de TT, pero siendo el TT total en todos los recipientes del kit de vacuna mayor que dicho umbral crítico.
- 5 14. El kit de vacuna de la reivindicación 13 en el que 1, 2 ó 3 de los recipientes incluyen uno o más polisacáridos u oligosacáridos conjugados con TT seleccionados de una lista que consiste en un polisacárido u oligosacárido neumocócico, MenC, MenY e Hib.
15. El kit de vacuna de la reivindicación 14 en el que uno o más de los polisacáridos u oligosacáridos conjugados con TT tienen una relación de polisacárido u oligosacárido:TT de 1:0,5-1,5 en peso.