

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 830 035**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/095** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.03.2014 PCT/EP2014/055355**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.09.2014 WO14147044**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.03.2014 E 14711232 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.08.2020 EP 2976101**

54 Título: **Método de tratamiento**

30 Prioridad:

**18.03.2013 US 201361802918 P**  
**05.09.2013 US 201361874008 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**02.06.2021**

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. (100.0%)**  
**Rue de l'Institut, 89**  
**1330 Rixensart, BE**

72 Inventor/es:

**BAINÉ, YAELA y**  
**MILLER, JACQUELINE**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 830 035 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

Método de tratamiento

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere al campo de los usos de las vacunas conjugadas contra *Neisseria meningitidis* para la prevención o tratamiento de la infección por *N. meningitidis*. En particular, la presente invención se refiere a la coadministración de vacunas conjugadas contra *N. meningitidis* con vacunas que contienen DTaP en una población que ha sido preinmunizada con al menos una vacuna conjugada que comprende un sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo C (MenC). Otro aspecto de la invención se refiere al uso de una inmunización adicional.

**Antecedentes**

15 La infección invasiva por *Neisseria meningitidis* causa una enfermedad grave con aproximadamente un 10 % de mortalidad incluso cuando se administran los antibióticos y la terapia de apoyo apropiados [1]. En los Estados Unidos, la mayoría de la enfermedad meningocócica invasiva (EMI) es causada por los serogrupos B, C e Y [2], mientras que los serogrupos A, W-135 y X, que son causas importantes de brotes de enfermedades en muchas regiones del mundo [3,4] se detectan con menos frecuencia. Los bebés menores de 1 año de edad tienen la mayor incidencia de EMI en los EE. UU. (aproximadamente 1:18.500 habitantes; 1998-2007) [2]. Por tanto, con el fin de hacer frente a la enfermedad meningocócica en bebés y niños estadounidenses, las vacunas antimeningocócicas conjugadas deben ser efectivas desde edades tempranas [5].

25 La vacuna meningocócica de los serogrupos C e Y, combinada con Hib (HibMenCY-TT, *MenHibrix™*, GlaxoSmithKline Vaccines), se autorizó recientemente en los EE. UU. para su uso en bebés como una serie de 4 dosis a partir de los 2 meses de edad [6], después de la demostración de inmunogenicidad y seguridad en ensayos clínicos realizados en bebés y niños pequeños [7-14]. Una vacuna conjugada antimeningocócica cuadrivalente de los serogrupos A, C, W-135 e Y (MenACWY) está autorizada en los EE. UU. para su uso en niños de 9-12 meses (*Menactra™*, Sanofi Pasteur): dos dosis de la cual están recomendadas por el Comité Asesor sobre Prácticas de Inmunización (ACIP) para niños con mayor riesgo de EMI debido a deficiencia del complemento o exposición debido a viajes/residencia en un área endémica [15]. Otra vacuna conjugada MenACWY está autorizada para su uso a partir de los 2 años de edad (*Menveo™*, Novartis).

35 La vacuna MenACWY de GlaxoSmithKline Vaccines con todos los serogrupos conjugados con el toxoide tetánico (TT) (Men-ACWY-TT: *Nimenrix™*), está autorizada como dosis única en Europa, pero sigue en fase de investigación en EE. UU. Los ensayos clínicos han demostrado que una dosis de MenACWY-TT es inmunogénica para los cuatro serogrupos y bien tolerada en niños pequeños a partir de los 12 meses de edad, niños, adolescentes y adultos [16-23].

40 Se mencionan también los siguientes documentos:

- Knuf et al (2011) Vaccine 29(25): 4264-4273 que se refiere a una vacuna conjugada meningocócica tetravalente experimental de los serogrupos A, C, W-135 y toxoide tetánico Y coadministrada con hexa por ser inmunogénica, con un perfil de seguridad aceptable en niños de 12-23 meses de edad; y
- la recomendación del Comité Asesor sobre Prácticas de Inmunización (ACIP) para el uso de la vacuna conjugada meningocócica tetravalente (MenACWY-D) en niños de 9 a 23 meses con mayor riesgo de enfermedad meningocócica invasiva, 14 de octubre de 2011 disponible en <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6040a4.htm>.

50 El programa de inmunización pediátrica está abarrotado y sigue existiendo la necesidad de evaluar la seguridad e inmunogenicidad de las vacunas conjugadas meningocócicas cuando se introducen en un programa de inmunización con otras vacunas pediátricas. Es valioso establecer si la coadministración con otras vacunas produce problemas de interferencia o mejora la inmunogenicidad.

55 El presente estudio evalúa la inmunogenicidad y seguridad de las vacunas conjugadas meningocócicas cuando se administran como dosis adicional en el segundo año de vida. En particular, describe el efecto de la coadministración con una dosis de vacuna la difteria-tétanos-pertussis acelular (DTaP) durante el segundo año de vida.

60 El estudio ha demostrado inesperadamente que la coadministración de una vacuna conjugada meningocócica multivalente con vacunas que contienen DTaP en el segundo año de vida conduce a una respuesta inmunitaria mejorada contra los conjugados meningocócicos en comparación con la administración de las vacunas en diferentes momentos. Un programa de inmunización más simple en el que se coadministran conjugado meningocócico y DTaP conduce al doble beneficio de menos visitas a una clínica y una mejor inmunogenicidad.

65 De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona una vacuna conjugada contra *N. meningitidis* para su uso

en la prevención o tratamiento de la enfermedad por *N. meningitidis* en donde un paciente humano se inmuniza en un esquema que comprende las etapas a) y b) en donde:

la etapa a) inmuniza al paciente humano en una primera edad de entre 0 y 11 meses con una vacuna conjugada de sacárido bacteriano que comprende al menos dos o tres sacáridos bacterianos conjugados con una proteína de vehículo para formar al menos dos o tres conjugados de sacáridos bacterianos, en donde los al menos dos o tres sacáridos bacterianos de la etapa (a) comprenden un sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo C (MenC); y

la etapa b) inmuniza al paciente humano en una segunda edad de entre 12 y 24 meses con una vacuna conjugada contra *Neisseria meningitidis* que comprende sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo A (MenA), sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo C (MenC), sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo W135 (MenW135), y sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo Y (MenY) conjugados por separado con una proteína de vehículo, en donde la vacuna conjugada contra *Neisseria meningitidis* se coadministra con una vacuna DTPa.

## Descripción de figuras

### Figura 1: Flujo del sujeto a través del estudio

Véase la Tabla 3 complementaria para más detalles de los motivos por los que los sujetos se retiraron del estudio o fueron eliminados de la cohorte de inmunogenicidad Según protocolo durante la Fase de cuarta dosis

\* sujetos que no participaron en la Fase de cuarta dosis porque no deseaban participar (n = 83); se perdieron durante el seguimiento (n=47); o no eran elegibles para participar (n=78).

**Figura 2:** Porcentaje de sujetos con títulos de hSBA  $\geq 1:8$  un mes después de la vacunación con MenACWY-TT o HibMenCY-TT a los 12-15 meses de edad, con MenACWY-TT + DTaP a los 15-18 meses de edad o con DTaP a los 15-18 meses de edad (grupo de control) (cohorte de inmunogenicidad de ATP, Fase de cuarta dosis).

ATP = Según protocolo; hSBA = actividad bactericida sérica utilizando una fuente de complemento humano

**Figura 3:** GMT de hSBA un mes después de la vacunación con MenACWY-TT o HibMenCY-TT a los 12-15 meses de edad, o con MenACWY-TT + DTaP a los 15-18 meses de edad o con DTaP a los 15-18 meses de edad (grupo de control) (cohorte de inmunogenicidad de ATP, Fase de cuarta dosis).

ATP = Según protocolo; hSBA = actividad bactericida sérica utilizando una fuente de complemento humano; GMT = media geométrica del título

\* Representa diferencias observadas entre el grupo de coadministración y otros grupos.

**Figura 4:** Síntomas esperados locales y generales dentro de los 8 días posteriores a la vacunación con MenACWY-TT o HibMenCY-TT a los 12-15 meses de edad, o de DTaP y MenACWY-TT (grupo Coad) a los 15-18 meses de edad (Cohorte total vacunada, Fase de cuarta dosis).

Para todos los grupos, los síntomas locales se refieren al porcentaje de sujetos con al menos un síntoma local en el lugar de inyección de MenACWY-TT o HibMenCY-TT. Fiebre (cualquier vía)  $\geq 38,0$  °C; Grado 3: Enrojecimiento e hinchazón  $>30$  mm; Dolor: lloraba cuando se tocaba una extremidad/dolor espontáneo; Fiebre (cualquier vía)  $>40$  °C; Irritabilidad/inquietud y somnolencia: actividad normal impedida; Pérdida del apetito - no come nada.

## Descripción detallada

La presente invención proporciona una vacuna conjugada contra *N. meningitidis* para su uso en la prevención o tratamiento de la enfermedad por *N. meningitidis* en donde un paciente humano se inmuniza en un esquema que comprende las etapas a) y b) en donde:

la etapa a) inmuniza al paciente humano en una primera edad de entre 0 y 11 meses con una vacuna conjugada de sacárido bacteriano que comprende al menos dos o tres sacáridos bacterianos conjugados con una proteína de vehículo para formar al menos dos o tres conjugados de sacáridos bacterianos, en donde los al menos dos o tres sacáridos bacterianos de la etapa (a) comprenden un sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo C (MenC); y

la etapa b) inmuniza al paciente humano en una segunda edad de entre 12 y 24 meses con una vacuna conjugada contra *Neisseria meningitidis* que comprende sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo A (MenA), sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo C (MenC), sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo W135 (MenW135), y sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo Y (MenY) conjugados por separado con una proteína de vehículo, en donde la vacuna conjugada contra *Neisseria meningitidis* se coadministra con una vacuna DTPa.

La etapa a) es una inmunización a la primera edad de entre 0 y 11 meses, que generalmente se lleva a cabo en bebés humanos a una edad de 0-8, 1-7 o 2-6 meses. En una realización, la etapa a) de inmunización además comprende un conjugado de sacárido de *Haemophilus influenzae* (Hib) y/o un conjugado de sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo Y (MenY), así como el conjugado de sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo C (MenC).

En una realización, el o cada uno de los conjugados administrados en la etapa a) contiene una proteína de vehículo seleccionada de toxoide tetánico, toxoide diftérico o CRM197. En una realización preferida, donde se administran múltiples conjugados en la etapa a), el mismo tipo de proteína de vehículo se conjuga independientemente con cada sacárido. En una realización preferida, la primera proteína de vehículo es el toxoide tetánico.

En una realización, la inmunización de la etapa a) implica la administración de 2 o 3 dosis del conjugado o conjugados de sacárido bacteriano, por ejemplo inmunizando a un bebé humano a los 2, 4 y 6 meses de edad.

5 En una realización durante la etapa a) el conjugado o conjugados de sacárido capsular bacteriano, incluyendo MenC y opcionalmente Hib y/o MenY, se administran al mismo tiempo que una vacuna que comprende los antígenos diftérico, tetánico y pertúsico (DTaP). El antígeno diftérico es normalmente el toxoide diftérico, el antígeno tetánico es normalmente el toxoide tetánico y el antígeno pertúsico es el pertúsico acelular, que opcionalmente comprende uno o más de toxoide pertúsico, FHA o pertactina. En una realización, la vacuna DTP además comprende un antígeno de superficie de la hepatitis B y/o VPI. En una realización, la inmunización de la etapa a) administra una vacuna  
10 HibMenCY-TT que contiene 2,5 µg de Hib PRP conjugado con toxoide tetánico y 5 µg de cada uno de los sacáridos capsulares MenC e Y conjugados con toxoide tetánico con un contenido total de TT de 5-40, 10-30, 15-20 µg o aproximadamente 18 µg.

15 La etapa b) implica inmunizar al mismo paciente humano a una segunda edad de entre 12 y 24 meses, preferiblemente 13 y 20, 12 y 18, 14 y 18 o 15-18 meses de edad. La etapa b) de inmunización implica la coadministración de i) una vacuna conjugada de sacárido capsular de *N. meningitidis* multivalente con ii) una vacuna que comprende toxoide diftérico y toxoide tetánico. La vacuna conjugada de sacárido capsular de *N. meningitidis* multivalente con sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo A (MenA), sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo C (MenC), sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo W135 (MenW135), y sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo Y (MenY)  
20 conjugados por separado con una proteína de vehículo.

En una realización, la vacuna conjugada de sacárido capsular de *N. meningitidis* multivalente utiliza una proteína de vehículo (segunda proteína de vehículo) que se selecciona del grupo que consiste en toxoide tetánico, toxoide diftérico o CRM197. En una realización, la segunda proteína de vehículo es el toxoide tetánico. En una realización preferida,  
25 la primera y segunda proteínas de vehículo son iguales, preferentemente el toxoide tetánico.

La vacuna coadministrada que contiene toxoide diftérico y toxoide tetánico es una vacuna DTaP que contiene adicionalmente componentes pertúsicos que son pertúsicos acelulares, por ejemplo que contienen toxoide pertúsico, FHA y pertactina. En una realización, la vacuna contiene toxoide diftérico, toxoide tetánico, y pertúsico acelular además  
30 comprende otros antígenos, por ejemplo VHB y/o VPI.

En una realización, la coadministración de la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* con una vacuna que contiene toxoide diftérico, toxoide tetánico y toxoide pertúsico acelular da como resultado un aumento de la inmunogenicidad de al menos un componente meningocócico; por ejemplo, MenC, MenY, MenW135, MenC y MenY, MenC y MenW135  
35 o MenC, MenW135 y MenY. En una realización, el aumento de la inmunogenicidad se mide mediante el ensayo de SBA (opcionalmente usando una fuente de complemento humano), opcionalmente realizado en suero tomado un mes después de la vacunación con la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente en el segundo año de vida. En una realización, la GMT aumenta tras la coadministración con una vacuna que comprende toxoide diftérico, toxoide tetánico, y pertúsico acelular en al menos un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 100 % en  
40 comparación con la GMT después de la administración de la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente sola.

En una realización la proteína de vehículo de la etapa b) está presente en la dosis conjugada contra *Neisseria meningitidis* a una dosis total de 10-100, 20-90, 20-80, 30-70, 35-60 o 40-50 µg. Por ejemplo, para una vacuna conjugada contra *N. meningitidis* tetravalente con TT, DT o CRM197 como proteína de vehículo se contempla una  
45 dosis de proteína de vehículo total de 20-80 µg. Para una vacuna conjugada contra *N. meningitidis* bivalente se contempla una dosis de proteína de vehículo total para TT, DT o CRM197 de 20-40 µg.

Los detalles expuestos anteriormente en relación con un método de inmunización se aplican igualmente a los usos de una vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente en la prevención o tratamiento de la enfermedad por *N. meningitidis*.  
50

En una realización, el tamaño promedio (o peso molecular) de al menos uno, dos, tres, cuatro o cada uno de los polisacáridos de *N. meningitidis* es 50 kDa - 1500 kDa, 50 kDa - 500 kDa, 50 kDa - 300 kDa, 101 kDa - 1500 kDa,  
55 101 kDa - 500 kDa, o 101 kDa - 300 kDa según se determina por MALLS.

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

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

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

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

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

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

15 En una realización, los polisacáridos de *N. meningitidis* son polisacáridos nativos o polisacáridos nativos que se han reducido en su tamaño durante un proceso de extracción normal.

20 En una realización, los polisacáridos de *N. meningitidis* se cambian de tamaño por escisión mecánica, por ejemplo, por microfluidización o sonicación. La microfluidización y la sonicación tienen la ventaja de disminuir el tamaño de los polisacáridos nativos más grandes suficientemente para proporcionar un conjugado filtrable. El cambio de tamaño es en un factor de no más de x 20, x 10, x 8, x 6, x 5, x 4, x 3, x 2 o x 1,5.

25 En una realización, la composición inmunógena comprende conjugados de *N. meningitidis* que se preparan a partir de una mezcla de polisacáridos nativos y polisacáridos que se cambian de tamaño en un factor de no más de x 20. Por ejemplo, los polisacáridos de MenC y/o MenA son nativos. Por ejemplo, los polisacáridos de MenY y/o MenW se cambian de tamaño en un factor de no más de x 20, x 10, x 8, x 6, x 5, x 4, x 3, x 2 o x 1,5. Por ejemplo, una composición inmunógena contiene un conjugado preparado a partir de MenY y/o MenW y/o MenC y/o MenA que se cambia de tamaño en un factor de no más de x 20, x 10, x 8, x 6, x 5, x 4, x 3, x 2 o x 1,5 y/o se microfluidiza. Por ejemplo, una composición inmunógena contiene un conjugado preparado a partir de MenA y/o MenC y/o MenW y/o MenY. Por ejemplo, una composición inmunógena comprende un conjugado preparado a partir de MenC nativo. Por ejemplo, una composición inmunógena comprende un conjugado preparado a partir de MenC y MenA nativo que se cambia de tamaño en un factor de no más de x 20, x 10, x 8, x 6, x 5, x 4, x 3, x 2 o x 1,5 y/o se microfluidiza. Por ejemplo, una composición inmunógena comprende un conjugado preparado a partir de MenC y MenY nativo que se cambia de tamaño en un factor de no más de x 20, x 10, x 8, x 6, x 5, x 4, x 3, x 2 o x 1,5 y/o se microfluidiza.

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

40 Los polisacáridos se cambian de tamaño opcionalmente hasta 1,5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 o 20 veces del tamaño del polisacárido aislado de las bacterias.

45 En una realización, la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente comprende un antígeno de *N. meningitidis* serogrupo B. El antígeno es opcionalmente un polisacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo B (MenB) o un polisacárido u oligosacárido con un tamaño cambiado derivado del mismo. El antígeno es opcionalmente una preparación de vesícula de la membrana externa de *N. meningitidis* serogrupo B como se describe en los documentos EP301992, WO 01/09350, WO 04/14417, WO 04/14418 y WO 04/14419.

En una realización, la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente además comprende un sacárido capsular de *H. influenzae* b (Hib) conjugado con una proteína de vehículo.

50 El polisacárido(s) de *N. meningitidis* (y opcionalmente el sacárido capsular Hib) incluidos en las composiciones farmacéuticas de la invención están conjugados con una proteína de vehículo tal como el toxoide tetánico, fragmento C de toxoide tetánico, mutantes no tóxicos de la toxina tetánica, toxoide diftérico, CRM197, otros mutantes no tóxicos de la toxina diftérica [tales como CRM176, CRM 197, CRM228, CRM 45 (Uchida et al J. Biol. Chem. 218; 3838-3844, 1973); CRM 9, CRM 45, CRM102, CRM 103 y CRM107 y otras mutaciones descritas por Nicholls y Youle en Genetically Engineered Toxins, Ed: Frankel, Maecel Dekker Inc, 1992; eliminación o mutación de Glu-148 en Asp, Gln o Ser y/o Ala 158 en Gly y otras mutaciones divulgadas en el documento US 4709017 o en el documento US 4950740; mutación de al menos uno o más restos Lys 516, Lys 526, Phe 530 y/o Lys 534 y otras mutaciones divulgadas en el documento US 5917017 o en el documento US 6455673; o el fragmento divulgado en el documento US 5843711].

60 En una realización, la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente de la invención utiliza la misma proteína de vehículo (independientemente) en el menos dos, tres, cuatro o cada uno de los polisacáridos de *N. meningitidis*. En una realización donde Hib está presente, Hib puede conjugarse con la misma proteína de vehículo que para al menos uno, dos, tres, cuatro o cada uno de los polisacáridos de *N. meningitidis*. Por ejemplo, 1, 2, 3 o 4 de los polisacáridos de *N. meningitidis* están independientemente conjugados con el toxoide tetánico para preparar 1, 2, 3 o 4 conjugados.

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

La vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente de la etapa b) comprende sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo A (MenA), sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo C (MenC), sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo W135 (MenW135), y sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo Y (MenY) conjugados por separado con una proteína de vehículo, comprende opcionalmente al menos un sacárido meningocócico (por ejemplo MenA; MenC; MenW; MenY; MenA y MenC; MenA y MenW; MenA y MenY; MenC y Men W; Men C y MenY; Men W y MenY; MenA, MenC y MenW; MenA, MenC y MenY; MenA, MenW y MenY; MenC, MenW y MenY o MenA, MenC, MenW y MenY) teniendo el conjugado una relación de sacárido Men a proteína de vehículo (particularmente toxoide tetánico) de entre 1:5 y 5:1, entre 1:2 y 5:1, entre 1:0,5 y 1:2,5 o entre 1:1,25 y 1:2,5 (p/p).

La relación de sacárido a proteína de vehículo (p/p) en un conjugado puede determinarse usando el conjugado esterilizado. La cantidad de proteína se determina usando un ensayo de Lowry (por ejemplo, Lowry et al., (1951) J. Biol. Chem. 193, 265-275 o Peterson et al., Analytical Biochemistry 100, 201-220 (1979)) y la cantidad de sacárido se determina usando ICP-OES (espectroscopia de emisión óptica-plasma acoplada inductivamente) para MenA, ensayo de DMAP para MenC y ensayo de Resorcinol para MenW y MenY (Monsigny et al., (1988) Anal. Biochem. 175, 525-530).

En una realización, el sacárido(s) capsular de *N. meningitidis* y/o el sacárido Hib está conjugado con la proteína de vehículo a través de un conector, por ejemplo, un conector bifuncional. El conector es opcionalmente heterobifuncional u homobifuncional, que tiene, por ejemplo, un grupo amino reactivo y un grupo de ácido carboxílico reactivo, 2 grupos amino reactivos o dos grupos ácido carboxílico reactivos. El conector tiene, por ejemplo, entre 4 y 20, 4 y 12, 5 y 10 átomos de carbono. Un posible conector es ADH. Otros conectores incluyen B-propionamido (documento WO 00/10599), nitrofenil-etilamina (Gevert et al., (1979) Med. Microbiol. Immunol. 165; 171-288), haluros de haloalquilo (documento US4057685), enlaces glucosídicos (documentos US4673574, US4808700), hexano diamina y ácido 6-aminocaproico (documento US4459286).

Los conjugados de polisacárido utilizados en la invención pueden prepararse mediante cualquier técnica conocida. El método de conjugación se basa en la activación del sacárido con tetrafluoroborato de 1-ciano-4-dimetilamino piridinio (CDAP) para formar un éster de cianato. El sacárido activado, por tanto, puede acoplarse directamente o mediante un grupo espaciador (conector) con un grupo amino en la proteína de vehículo. Por ejemplo, el espaciador podría ser cistamina o cisteamina para dar un polisacárido tiolado que podría acoplarse al vehículo mediante un enlace tioéter obtenido después de reacción con una proteína de vehículo activada con maleimida (por ejemplo, usando GMBS) o una proteína de vehículo holoacetilada (por ejemplo, usando yodoacetimida o bromoacetatobromoacetato de N-succinimidilo). Opcionalmente, el éster de cianato (preparado opcionalmente mediante química de CDAP) se acopla con hexano diamina o ADH y el sacárido derivatizado con amino se conjuga con la proteína de vehículo usando química de carbodiimida (por ejemplo, EDAC o EDC). Dichos conjugados se describen en la solicitud publicada PCT WO 93/15760 Uniformed Services University y los documentos WO 95/08348 y WO 96/29094.

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

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

Un método adicional implica el acoplamiento de un sacárido activado con bromuro de cianógeno (o CDAP) derivatizado con hidrazida de ácido adípico (ADH) con el vehículo de proteína por condensación de carbodiimida (Chu C. et al., Infect. Immunity, 1983 245 256), por ejemplo, usando EDAC.

En una realización, un grupo hidroxilo (opcionalmente un grupo hidroxilo activado, por ejemplo, un grupo hidroxilo activado por un éster de cianato) en un sacárido se une a un grupo amino o carboxílico en una proteína ya sea directa o indirectamente (a través de un conector). Donde hay presente un conector, un grupo hidroxilo en un sacárido se une opcionalmente a un grupo amino en un conector, por ejemplo, mediante el uso de conjugación con CDAP. Un grupo amino adicional en el conector, por ejemplo ADH, se puede conjugar con un grupo de ácido carboxílico en una proteína, por ejemplo usando la química de carbodiimida, por ejemplo, usando química de carbodiimida, por ejemplo usando

EDAC. En una realización, el Hib o el polisacárido(s) capsular de *N. meningitidis* se conjuga con el conector en primer lugar antes de que el conector se conjugue con la proteína de vehículo.

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

10 En una realización, al menos uno de los polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* está directamente conjugado con una proteína de vehículo; opcionalmente el sacárido(s) Men W y/o MenY y/o MenC está directamente conjugado con una proteína de vehículo. Por ejemplo MenW; MenY; MenC; MenW y MenY; MenW y MenC; MenY y MenC; o MenW, MenY y MenC están directamente unidos a la proteína de vehículo. Opcionalmente el al menos uno de los polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* está directamente conjugado mediante CDAP. Por ejemplo MenW; MenY; MenC; MenW y MenY; MenW y MenC; MenY y MenC; o MenW, MenY y MenC están directamente unidos a la proteína de vehículo mediante CDAP (véase el documento WO 95/08348 y el documento WO 96/29094). En una realización, todos los polisacáridos capsulares de *N. meningitidis* están conjugados con el toxoide tetánico.

20 Opcionalmente la relación de sacárido Men W y/o Y a proteína de vehículo está entre 1:0,5 y 1:2 (p/p) y/o la relación de sacárido MenC a proteína vehículo está entre 1:0,5 y 1:4 o 1:1,25-1:1,5 o 1:0,5 y 1:1,5 (p/p), especialmente cuando estos sacáridos están directamente unidos a la proteína, opcionalmente usando CDAP.

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

30 En una realización, MenA; MenC; o MenA y MenC se conjugan con una proteína de vehículo (por ejemplo, toxoide tetánico) mediante un conector.

35 En una realización, al menos un polisacárido de *N. meningitidis* está conjugado con una proteína de vehículo mediante un enlazador usando CDAP y EDAC. Por ejemplo, MenA; MenC; o MenA y MenC se conjugan con una proteína a través de un conector (por ejemplo, aquellos con dos grupos hidrozino en sus extremos tales como ADH) usando CDAP y EDAC como se describió anteriormente. Por ejemplo, se usa CDAP para conjugar el sacárido a un conector y EDAC se usa para conjugar el conector a una proteína. Opcionalmente, la conjugación mediante un conector produce una relación de polisacárido a proteína de vehículo de entre 1:0,5 y 1:6; 1:1 y 1:5 o 1:2 y 1:4, para MenA; MenC; o MenA y MenC.

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

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

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

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

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

65 El término "sacárido" incluye polisacáridos u oligosacáridos. Los polisacáridos se aíslan de bacterias o se aíslan de bacterias y se cambian de tamaño en algún grado por métodos conocidos (véanse, por ejemplo, los documentos EP497524 y EP497525) y opcionalmente por microfluidización. Los polisacáridos pueden cambiarse de tamaño para

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

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

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

En una realización, la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente contiene cada uno de los sacáridos capsulares de *N. meningitidis* en una dosis de entre 0,1-20 µg; 1-10 µg; 2-10 µg, 2,5-5 µg, aproximada o exactamente 15 5 µg; o aproximada o exactamente 2,5 µg.

"Alrededor de" o "aproximadamente" se definen como en un 10 % más o menos de la cifra dada para los fines de la invención.

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

La vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente contiene MenA, MenC, MenW135 y MenY, opcionalmente contiene MenA, MenC, MenW135 y MenY en unas relaciones de dosis de sacárido de 1:1:1:1 o 2:1:1:1 o 1:2:1:1 o 25 2:2:1:1 o 1:3:1:1 o 1:4:1:1 (p/p).

Una vacuna de la invención para uso en la prevención o tratamiento de la enfermedad por *N. meningitidis* opcionalmente contiene un excipiente farmacéuticamente aceptable.

30 En una realización la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente está tamponada, o se ajusta a, entre pH 7,0 y 8,0, pH 7,2 y 7,6 o aproximada o exactamente pH 7,4.

La vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente opcionalmente se liofiliza en presencia de un agente estabilizante, por ejemplo, un poliol tal como sacarosa o trehalosa.

35 Opcionalmente, la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente contiene una cantidad de un adyuvante suficiente para potenciar la respuesta inmunitaria al inmunógeno. Los adyuvantes adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, sales de aluminio (fosfato de aluminio o hidróxido de aluminio), mezclas de escualeno (SAF-1), muramil péptido, derivados de saponina, preparaciones de pared celular micobacteriana, monofosforil lípido A, 40 derivados de ácido micólico, tensioactivos de copolímero de bloques no iónicos, Quil A, subunidad B de la toxina del cólera, polifosfaceno y derivados, y complejos inmunoestimulantes (ISCOM) tales como los descritos por Takahashi *et al.* (1990) Nature 344:873-875.

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

Como con todas las composiciones inmunógenas o vacunas, las cantidades inmunológicamente eficaces de los inmunógenos deben determinarse empíricamente. Factores a considerar incluyen la inmunogenicidad, vaya el 50 inmunógeno a formar complejos o no con o adherirse covalentemente a un adyuvante o proteína de vehículo u otro vehículo o no, la vía de administración y el número de dosificaciones inmunizantes a administrar. Dichos factores son conocidos en la técnica de las vacunas y está dentro de la habilidad de los inmunólogos hacer tales determinaciones sin experimentación excesiva.

El agente activo puede estar presente en cantidades variables en la composición farmacéutica o la vacuna de la 55 invención. Normalmente, la concentración mínima de la sustancia es una cantidad necesaria para conseguir su uso pretendido, mientras que la cantidad máxima es la cantidad máxima que permanecerá en solución o suspendida homogéneamente dentro de la mezcla inicial. Por ejemplo, la cantidad mínima de un agente terapéutico es opcionalmente una que proporcionará una única dosificación terapéuticamente eficaz. Para sustancias bioactivas, la concentración mínima es una cantidad necesaria para la bioactividad tras la reconstitución y la concentración máxima 60 está en el punto en que no puede mantenerse una suspensión homogénea. En el caso de unidades monodosis, la cantidad es la de una única aplicación terapéutica. En general, se espera que cada dosis comprenda 1-100 µg de antígeno proteínico, opcionalmente 5-50 µg o 5-25 µg. Ejemplos de dosis de sacáridos bacterianos son 10-20 µg, 5-10 µg, 25-5 µg o 1-2,5 µg. La cantidad preferida de sustancia varía de una sustancia a otra, pero un experto en la materia puede determinarla fácilmente.

65 Las preparaciones de vacuna de la presente invención son para uso en la prevención o tratamiento de la enfermedad

por *N. meningitidis* que puede comprender la administración de dicha vacuna por vía sistémica o mucosa. Un paciente humano tiene entre 0 y 11 meses para la etapa a) y entre 12 y 24 meses para la etapa b) (por ejemplo, 12-16 o 12-14 meses). La vacuna conjugada contra *N. meningitidis* de la invención para su uso en la prevención o tratamiento de la enfermedad por *N. meningitidis* que puede ser mediante administraciones que pueden incluir la inyección mediante las vías intramuscular, intraperitoneal, intradérmica o subcutánea; o mediante administración mucosa a los tractos oral/alimentario, respiratorio, genitourinario. Además de una única vía de administración, pueden usarse 2 vías diferentes de administración. Por ejemplo, los antígenos víricos pueden administrarse ID (por vía intradérmica), mientras que las proteínas bacterianas pueden administrarse IM (por vía intramuscular) o IN (por vía intranasal). Si los sacáridos están presentes, pueden administrarse IM (o ID) y las proteínas bacterianas pueden administrarse IN (o ID). Además, las vacunas de la invención pueden ser para uso en un esquema que comprende la administración IM para dosis de sensibilización e IN para dosis de refuerzo.

Los inventores han determinado además que una dosis de refuerzo posterior de una vacuna conjugada contra *Neisseria meningitidis* que comprende al menos dos sacáridos capsulares seleccionados del grupo que consiste en sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo A (MenA), sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo C (MenC), sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo W135 (MenW135) y sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo Y (MenY) puede proporcionar una respuesta inmunitaria incluso más potente contra los antígenos de sacárido capsular. Los datos proporcionados en el ejemplo 3 muestran que una inmunización de refuerzo administrada varios años después de una inmunización inicial da un valor de GMT mucho más alto evaluado mediante el ensayo SBA. Las dosis de refuerzo adicionales de vacunas conjugadas meningocócicas podrían prolongar la duración de la protección inducida por la vacuna. Una dosis de refuerzo adicional puede considerarse una etapa opcional adicional del aspecto de coadministración de la invención.

En consecuencia, la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* para uso en la prevención o tratamiento de la enfermedad por *N. meningitidis* puede ser una en donde en el esquema de inmunización existe una reinmunización del paciente humano a una edad de entre 4 y 20, 5 y 15, 5 y 11, 5 y 9 o 5 y 6 años con una vacuna conjugada contra *N. meningitidis* de refuerzo que comprende al menos dos de MenA, MenC, MenW135 y MenY, cada uno conjugado por separado con una proteína de vehículo.

En una realización, las vacunas conjugadas contra *N. meningitidis* de refuerzo comprenden los conjugados MenC y MenY.

En una realización, la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* de refuerzo comprende conjugados de MenA, MenC, MenW135 y MenY.

En una realización, cada sacárido capsular de la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* de refuerzo está conjugada con una proteína de vehículo seleccionada del grupo que consiste en toxoide tetánico, toxoide diftérico o CRM197, preferentemente la proteína de vehículo es el toxoide tetánico o CRM197, más preferentemente la proteína de vehículo es el toxoide tetánico.

En una realización, cada sacárido capsular de la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente está conjugado con una proteína de vehículo seleccionada del grupo que consiste en toxoide tetánico, toxoide diftérico o CRM197, preferentemente la proteína de vehículo es el toxoide tetánico o CRM197, más preferentemente la proteína de vehículo es el toxoide tetánico.

Se entenderá que los atributos de los sacáridos y conjugados meningocócicos expuestos anteriormente para los aspectos iniciales de la invención también son aplicables al segundo aspecto de la invención. En consecuencia, las descripciones de sacáridos y conjugados meningocócicos expuestos anteriormente están opcionalmente presentes en la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* multivalente y en la vacuna conjugada contra *N. meningitidis* de refuerzo.

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

Las expresiones "comprendiendo", "comprende" y "que comprende" en el presente documento están destinadas por los inventores a ser opcionalmente sustituibles con las expresiones "consistiendo en", "consiste" y "que consiste en", respectivamente, en cada caso.

## 60 Ejemplos

### Ejemplo 1

#### Diseño del estudio

65 Este estudio de fase III, aleatorizado, y controlado se realizó en 59 centros en los EE. UU. de acuerdo con las Buenas

Prácticas Clínicas y la Declaración de Helsinki (1996 Somerset West). Se obtuvo el consentimiento informado por escrito del padre/tutor de cada sujeto antes de la inclusión.

5 Los lactantes sanos se incluyeron y asignaron aleatoriamente 5:1 a la vacunación a los 2, 4 y 6 meses de edad con HibMenCY-TT y DTaP-HBV-IPV, o Hib-TT + DTaP-HBV-IPV (Tabla 1, Figura 1). A los 12-15 meses de edad (Fase de cuarta dosis), los niños vacunados con HibMenCY-TT + DTaP-HBV-IPV fueron reasignados aleatoriamente (2:2:1) para recibir MenACWY-TT a los 12-15 meses de edad seguido de DTaP a los 15-18 meses (grupo MenACWY-TT); MenACWY-TT coadministrado con DTaP a los 15-18 meses de edad (grupo Coad); o HibMenCY-TT a los 12-15 meses de edad seguido de DTaP a los 15-18 meses (grupo HibMenCY-TT). Los niños sensibilizados con Hib-TT + DTaP-  
10 HBV-IPV no fueron reasignados al azar y recibieron DTaP a los 15-18 meses de edad (grupo de control). Los sujetos de los grupos Coad, MenACWY-TT y Control no recibieron la vacuna de refuerzo contra Hib debido a la escasez de la vacuna conjugada contra Hib en los EE. UU. en el momento de la realización del estudio. Las vacunas de refuerzo contra Hib se aplazaron hasta que se dispusiera de nuevo de la vacuna conjugada contra Hib [25]. El estudio se realizó antes de que se dispusiera de una vacuna conjugada antimeningocócica autorizada en los EE. UU. para su uso en niños <2 años; el grupo de control no recibió la vacuna antimeningocócica durante el estudio. A todos los sujetos se les permitió recibir las vacunas de rutina recomendadas por el ACIP.

El estudio fue simple ciego en la fase primaria debido a la diferente apariencia de las vacunas. Antes de la cuarta dosis, se informó a los padres/tutores qué vacunas había recibido su hijo en la fase primaria, y conocían su grupo de  
20 tratamiento en la fase de cuarta dosis, debido al diferente número de vacunas y puntos de tiempo de muestreo de suero para los distintos grupos de tratamiento.

Se utilizó una lista de aleatorización para numerar las vacunas. La asignación aleatoria para cada fase del estudio se realizó mediante un sistema central basado en la web, que incluía un procedimiento de minimización para garantizar  
25 una asignación equilibrada entre los grupos en los diferentes centros.

#### *Sujetos y vacunas del estudio*

Los participantes eran bebés sanos de entre 6-12 semanas de edad, nacidos después de al menos 36 semanas de  
30 gestación. Los criterios de exclusión incluyeron la recepción previa de cualquier producto sanguíneo desde el nacimiento o la recepción de vacunas distintas de la vacuna antineumocócica conjugada o la vacuna contra el rotavirus humano dentro de los 30 días posteriores a la primera dosis. Se permitió una dosis al nacimiento de la vacuna contra la hepatitis B. Los antecedentes de enfermedad por *N. meningitidis*, Hib, difteria, tétanos, tos ferina, hepatitis B o poliomielitis, o la vacunación contra cualquiera de estas enfermedades realizada fuera del estudio era motivo de  
35 exclusión de las fases de dosis primaria y cuarta. Para la inclusión en la fase de cuarta dosis, los sujetos debían haber recibido las 3 dosis de vacunación primaria.

Una dosis de 0,5 ml de HibMenCY-TT contenía 2,5 µg de Hib-fosfato polirribositol (PRP) conjugado con TT, y 5 µg de polisacárido MenC y de polisacárido MenY conjugados con TT (contenido total de TT ~18 µg). Una dosis de 0,5 ml de  
40 MenACWY-TT contenía 5 µg de cada polisacárido meningocócico de serogrupo A, C, W-135 e Y conjugado con TT (contenido total de TT ~44 µg). Las vacunas antimeningocócicas liofilizadas se reconstituyeron con solución salina estéril para inyección y se administraron por vía intramuscular en el muslo o brazo izquierdo.

La composición de las vacunas DTaP-HBV-IPV (*Pediarix™*, GlaxoSmithKline Vaccines) e Hib-TT (*ActHIB™*, Sanofi Pasteur) aprobadas se describe en otro sitio [10]. La composición de DTaP (*Infanrix™*, GlaxoSmithKline Vaccines) es la misma que la del componente DTaP de DTaP-HBV-IPV.

#### *Objetivos del estudio*

50 Los objetivos principales fueron 1) Demostrar la no inferioridad de MenACWY-TT con y sin coadministración de DTaP a una cuarta dosis de HibMenCY-TT en términos del porcentaje de sujetos con títulos de actividad bactericida sérica (utilizando una fuente de complemento humano: hSBA)  $\geq 1:8$  y media geométrica de los títulos (GMT) para los serogrupos C e Y; 2) Demostrar la inmunogenicidad de una dosis única de MenACWY-TT con o sin coadministración de DTaP en términos del porcentaje de sujetos con títulos de hSBA  $\geq 1:8$  para los serogrupos A y W-135; y 3) demostrar  
55 la no inferioridad de la DTaP coadministrada con MenACWY-TT frente a la administración de DTaP sola en términos del porcentaje de sujetos con concentraciones de anticuerpos anti-difteria y anti-tétanos  $\geq 1,0$  UI/ml y concentraciones de la media geométrica antipertussis. Este artículo describe los criterios de valoración meningocócicos de acuerdo con los criterios estadísticos predefinidos. Los criterios de valoración y las respuestas inmunitarias se resumen en la Tabla 2. Los criterios de valoración relacionados con la vacuna de refuerzo DTaP se describen en otro lugar [24].

#### *Evaluación de la inmunogenicidad*

Se recolectaron muestras de sangre de los sujetos un mes después de la vacunación (Tabla 1) y antes de la  
65 vacunación en el grupo Coad a los 15-18 meses de edad (para evaluar la persistencia de hSBA a los 15-18 meses de edad después de la vacunación infantil de 3 dosis con HibMenCY-TT).

*Seguridad y evaluación de la reactividad*

Los padres registraron los síntomas locales y generales específicos en tarjetas de diario durante 8 días (día 0-7) después de la cuarta dosis de vacunación. Todos los demás acontecimientos adversos (AA) se registraron durante 31 días después de la vacunación. Los acontecimientos adversos graves (AAG) y la aparición de AA específicos que indican un nuevo inicio de enfermedad crónica, y las afecciones que motivaron visitas a urgencias se notificaron desde la dosis 1 hasta 6 meses después de la última vacunación mediante un guión telefónico estandarizado. La aparición de erupciones se registró durante la fase de cuarta dosis. Un AAG se definió como un acontecimiento que tiene como resultado la muerte o que es potencialmente mortal; un acontecimiento que requiere hospitalización o prolongación de la hospitalización existente; un acontecimiento que produce discapacidad o incapacidad del sujeto; o cualquier otro acontecimiento considerado grave por el investigador.

*Análisis estadísticos*

El análisis de inmunogenicidad se realizó en la cohorte de inmunogenicidad según protocolo (ATP) que incluyó a todos los sujetos vacunados que cumplieron con los procedimientos definidos por el protocolo. Los objetivos primarios se evaluaron de manera jerárquica; esto es, un objetivo solo podría considerarse cumplido formalmente una vez cumplidos todos los objetivos anteriores. La recogida de una muestra de sangre previa a la vacunación en el grupo Coad (Tabla 1) permitió el cálculo de las tasas de respuesta a la vacuna y las proporciones GMT antes y después de la vacunación en este grupo. La respuesta a la vacuna se definió como un título de anticuerpo  $\geq 1:8$  después de la vacunación en sujetos inicialmente seronegativos, y un aumento  $\geq 4$  veces en el título de anticuerpos antes de la vacunación en sujetos inicialmente seropositivos.

Las posibles diferencias entre los grupos se destacaron en los análisis exploratorios si el intervalo de confianza (IC) del 95 % estandarizado asintótico para la diferencia entre 2 grupos en los porcentajes de sujetos que alcanzaron los puntos de corte especificados no incluía 0, o si el IC del 95 % para la razón GMT entre grupos no incluía 1. Estos análisis exploratorios deben interpretarse con cautela considerando que no hubo ajuste por multiplicidad.

El análisis de seguridad se realizó en la cohorte total vacunada que incluía a todos los sujetos vacunados. La incidencia y la intensidad de los síntomas se calcularon con un IC del 95 % exacto para cada grupo.

Los análisis se realizaron utilizando el software SAS® versión 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, Estados Unidos) y ProcStatXact 7.0.

**Resultados***Sujetos de estudio*

Un total de 1554 sujetos fueron incluidos y vacunados en la fase de vacunación primaria, de los cuales 1447 completaron la fase del estudio. Para la fase de cuarta dosis, se incluyeron y vacunaron a 1303 niños pequeños (Figura 1), de los cuales 1238 sujetos completaron la Fase de vacunación de cuarta dosis del estudio y 1209 completaron la fase de seguimiento de seguridad extendida. En la Tabla 3 (complementaria) se ofrece un resumen de las razones por las que los sujetos se retiraron del estudio o fueron eliminados de las cohortes de ATP. Dos sujetos, uno del grupo MenACWY-TT y uno del grupo HibMenCY-TT, se retiraron durante la Fase de vacunación de cuarta dosis debido a un AA. Ambos sujetos experimentaron una convulsión febril antes de la quinta dosis programada de DTaP: una con inicio 38 días después de la cuarta dosis y otra con inicio 43 días después de la cuarta dosis. Ningún acontecimiento fue considerado relacionado con la vacuna por el investigador. Había 955 sujetos en la cohorte de inmunogenicidad de ATP. Había más hombres que mujeres en el grupo Coad (165 frente a 138, respectivamente) y más mujeres que hombres en el grupo Control (97 frente a 78, respectivamente). Por lo demás, los grupos de estudio eran comparables en términos de características demográficas (Tabla 4: complementaria).

*Inmunogenicidad*

Después de la vacunación con HibMenCY-TT o MenACWY-TT a los 12-15 meses de edad o con MenACWY-TT + DTaP a los 15-18 meses de edad, el 100 % de los sujetos tenían títulos de hSBA  $\geq 1:8$  para los serogrupos C e Y (Figura 2), contra los que se habían sensibilizado previamente. Al menos el 96,1 % de los sujetos vacunados con MenACWY-TT también tenían títulos de hSBA  $\geq 1:8$  para los serogrupos A y W-135 (Figura 2). Muy pocos sujetos ( $\leq 7,8$  %) en el grupo de control tenían títulos de hSBA  $\geq 1:8$  para cualquier serogrupo de vacuna.

Los análisis exploratorios no detectaron diferencias entre los grupos MenACWY-TT y Coad en comparación con el grupo HibMenCY-TT para los serogrupos C e Y en términos del porcentaje de sujetos con títulos de hSBA  $\geq 1:8$ , un mes después de la vacunación. Sin embargo, los resultados sugirieron GMT post-vacunación más altos: 1) para los serogrupos C e Y en los grupos MenACWY-TT y Coad en comparación con el grupo HibMenCY-TT y 2) para los serogrupos C, W-135 e Y en el grupo Coad en comparación con el grupo MenACWY-TT (Figura 3).

El porcentaje de sujetos en el grupo Coad con una respuesta de vacuna fue de 95,9 % (IC 95 % 92,3 %; 98,1 %) para

el serogrupo A, 99,2 % (97,3 %; 99,9 %) para el serogrupo C, 97,7 % (94,8 %; 99,3 %) para el serogrupo W-135 y 98,9 % (96,8 %; 99,8 %) para el serogrupo Y. Al menos el 96,1 % de los sujetos inicialmente seronegativos mostraban una respuesta frente a la vacuna contra uno o más serogrupos.

- 5 Antes de la vacunación en el grupo Coad, el 90,7 % y el 96,3 % de los sujetos mantuvieron títulos de hSBA seroprotectores ( $\geq 1:4$ ) contra los serogrupos C e Y tras la sensibilización con 3 dosis de HibMenCY-TT. En el grupo Coad, las GMT aumentaron desde antes hasta después de la vacunación en 107 veces para el serogrupo C y 53 veces para el serogrupo Y, lo que es indicativo de una respuesta de refuerzo después de la sensibilización con HibMenCY-TT; y 44 veces para el serogrupo A y 244 veces para el serogrupo W-135, mostrando buena  
10 inmunogenicidad a la primera exposición a estos antígenos de la vacuna.

Las tasas de seroprotección posteriores a la dosis 4 y las GMT para el serogrupo W-135 fueron altas en los grupos MenACWY-TT y Coad, así como en los receptores de HibMenCY-TT que no recibieron el antígeno de la vacuna W-135 en la dosis 4. No se observó respuesta al serogrupo W-135 en los controles.

15

#### *Reactogenicidad*

Los porcentajes de sujetos que notificaron síntomas locales y generales estaban en el mismo intervalo en los 3 grupos de investigación (Figura 4). Los porcentajes de los sujetos que notificaron AAG, una nueva aparición de enfermedad crónica y AA que provocaron asistencia en urgencias desde el inicio de la vacunación primaria hasta 6 meses después de la cuarta dosis fueron similares en los 3 grupos (Tabla 5). Se consideró que tres AAG notificados en dos sujetos estaban relacionados con la vacuna: Hubo un caso de un bebé hipotónico que se produjo 47 días después de la dosis 4 (grupo Coad), que se resolvió después de 2 días. Además, se notificó un caso de convulsión que se produjo 65 días después de la primera dosis de vacunación primaria (grupo HibMenCY-TT) que se resolvió en un lactante que murió más tarde de un segundo AAG (síndrome de muerte súbita del lactante) 89 días después de la dosis 1. Hubo otras tres muertes durante el estudio (todas en la fase primaria), ninguna de las cuales se consideró relacionada con la vacuna: un sujeto murió por el síndrome de muerte súbita del lactante 33 días después de la dosis 1; un sujeto de deshidratación, síndrome urémico hemolítico y choque séptico 43 días después de la dosis 1, y un sujeto de leucemia (inicio 57 días después de la dosis 3) y eventual insuficiencia respiratoria.

20

25

30

#### **Ejemplo 2 - determinación del peso molecular usando MALLS**

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

35

El peso molecular medio en peso ( $M_w$ ) se define como la suma de los pesos de todas las especies multiplicada por su respectivo peso molecular u dividida por la suma de pesos de todas las especies.

40

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

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

45

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

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

50

- c) Media cuadrática del radio:  $-R_w-$  y  $R^2_w$  es el cuadrado del radio definido por:

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

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

55

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

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

60

Las polidispersidades de peso molecular y las recuperaciones de todas las muestras se calcularon mediante el método de Debye usando un orden de ajuste polinomial de 1 en el programa informático Astra 4.72.

5 **Ejemplo 3 - Efecto de la inmunización de refuerzo**

Un estudio adicional evaluó la persistencia de anticuerpos 12 meses después de la vacunación de refuerzo con una vacuna conjugada meningocócica de los serogrupos A, C, W-135, Y (MenACWY-TT, GlaxoSmithKline Vaccines) en comparación con una vacuna conjugada meningocócica del serogrupo C (MenC-CRM<sub>197</sub>, Wyeth LLC), en niños sanos.

10 **Métodos:** En este estudio de fase III, sin enmascaramiento, controlado, multicéntrico realizado en Finlandia (NCT00955682), niños previamente aleatorizados (3:1) y reforzados con una única dosis de MenACWY-TT o MenC-CRM<sub>197</sub> a la edad de 12-23 meses (NCT00474266) recibieron una dosis de refuerzo de las mismas vacunas 48 meses después de la sensibilización. La inmunogenicidad se evaluó en el mes (M) 60 (12 meses después de la dosis de refuerzo) con ensayos de anticuerpos bactericidas en suero usando complemento de conejo (rSBA; corte 1:8) y complemento humano (hSBA; corte 1:4). Los acontecimientos adversos graves (AAG) relacionados con la vacuna se registraron hasta el M60.

20 **Resultados:** De los 293 niños que recibieron la dosis de refuerzo, 286 volvieron al M60, y 277 se incluyeron en la cohorte según protocolo para la persistencia al M60 (MenACWY-TT: N=231; MenC CRM<sub>197</sub>: N=46). En el M60, todos los receptores de MenACWY-TT mantenían los títulos de rSBA ≥1:8 (excepto para MenC, 97,4 %) y los títulos de hSBA ≥1:4 (excepto para MenA, 95,5 %) (Tabla). Las medias geométricas de los títulos de los anticuerpos (GMT) anti-hSBA en el M60 disminuyeron en comparación con M49 (1 mes después del refuerzo), pero fueron más altas que después de la vacunación primaria. Las tasas de seropositividad de MenC y GMT (rSBA, hSBA) fueron comparables entre los grupos. No se notificaron acontecimiento adversos graves relacionados con la vacuna.

**Conclusión:** Los anticuerpos evaluados por los ensayos de rSBA y hSBA persistieron para cada serogrupo en >97 % de los niños 12 meses después de la vacunación de refuerzo con MenACWY-TT. Estos datos indican que dosis de refuerzo adicionales de MenACWY-TT podrían prolongar la duración de la protección inducida por la vacuna.

**Tabla 6: Porcentaje de niños con títulos de rSBA ≥1:8 y títulos de hSBA ≥1:4 y GMT correspondientes (cohorte de ATP para la persistencia en el M60)**

Anticuerpo	Grupo	rSBA			hSBA		
		N	% ≥ 1:8 (IC 95 %)	GMT (IC 95 %)	N	% ≥ 1:4 (IC 95 %)	GMT (IC 95 %)
MenA	MenACWY-TT	231	100 (98,4-100)	978,9 (860,2-1114,0)	221	95,5 (91,8-97,8)	88,0 (73,6-105,1)
MenC	MenACWY-TT	231	97,4 (94,4-99,0)	226,4 (183,7-279,0)	228	100 (98,4-100)	1342,3 (1134,6-1588,1)
	MenC-CRM <sub>197</sub>	46	97,8 (88,5-99,9)	320,9 (201,1-512,2)	33	100 (89,4-100)	931,1 (572,8-1513,4)
MenW-135	MenACWY-TT	231	100 (98,4-100)	1390,7 (1203,2-1607,3)	218	100 (98,3-100)	2196,6 (1955,7-2467,2)
MenY	MenACWY-TT	231	100 (98,4-100)	1071,1 (924,9-1240,5)	206	100 (98,2-100)	1110,8 (987,5-1249,6)

GMT = media geométrica del título de anticuerpo; ATP = según protocolo; M60 = Mes 60, 12 meses después del refuerzo; N = número de sujetos con resultados disponibles; IC 95 %=ensayo rSBA con un intervalo de confianza de 95 % realizado en la Public Health England; ensayo hSBA en GlaxoSmithKline Vaccines)

30

**Tabla 7:** Porcentaje de sujetos con títulos de hSBA iguales o superiores a los valores de corte de 1:4 y 1:8 y GMT (cohorte de ATP para la persistencia en el mes 60)

Anticuerpo	Grupo	Momento	N	≥1:4				≥1:8				GMT			
				n	%	IC 95 %		n	%	IC 95 %		valor	IC 95 %		
						LL	UL			LL	UL		LL	UL	
hSBA-MenA	MenACWY -TT	PRE	226	4	1,8	0,5	4,5	1	0,4	0,0	2,4	2,0	2,0	2,1	
		POST	220	185	84,1	78,6	88,7	178	80,9	75,1	85,9	23,7	19,5	28,7	
		M24	191	52	27,2	21,0	34,1	47	24,6	18,7	31,3	4,1	3,4	4,9	
		M36	210	77	36,7	30,1	43,6	72	34,3	27,9	41,1	5,6	4,5	6,8	
		M48	203	56	27,6	21,6	34,3	55	27,1	21,1	33,8	4,6	3,7	5,5	
		M49	214	213	99,5	97,4	100	213	99,5	97,4	100	1371,2	1149,7	1635,4	
		M60	221	211	95,5	91,8	97,8	211	95,5	91,8	97,8	88,0	73,6	105,1	
		PRE	35	0	0,0	0,0	10,0	0	0,0	0,0	10,0	2,0	2,0	2,0	
		POST	34	0	0,0	0,0	10,3	0	0,0	0,0	10,3	2,0	2,0	2,0	
		M24	30	2	6,7	0,8	22,1	0	0,0	0,0	11,6	2,1	1,9	2,3	
		M36	29	5	17,2	5,8	35,8	4	13,8	3,9	31,7	2,7	2,1	3,4	
		M48	29	4	13,8	3,9	31,7	4	13,8	3,9	31,7	2,8	2,0	3,9	
M49	30	4	13,3	3,8	30,7	4	13,3	3,8	30,7	2,7	2,0	3,6			
M60	28	3	10,7	2,3	28,2	3	10,7	2,3	28,2	2,5	1,9	3,2			
hSBA-MenC	MenACWY -TT	PRE	230	2	0,9	0,1	3,1	2	0,9	0,1	3,1	2,0	2,0	2,1	
		POST	219	215	98,2	95,4	99,5	214	97,7	94,8	99,3	181,5	154,5	213,2	
		M24	181	157	86,7	80,9	91,3	155	85,6	79,7	90,4	48,7	37,5	63,1	
		M36	211	168	79,6	73,5	84,8	162	76,8	70,5	82,3	33,3	25,5	43,5	
		M48	211	153	72,5	66,0	78,4	152	72,0	65,5	78,0	30,1	22,4	40,5	
		M49	221	221	100	98,3	100	221	100	98,3	100	15490,7	13389,3	17921,9	
		M60	228	228	100	98,4	100	228	100	98,4	100	1342,3	1134,6	1588,1	
		PRE	35	1	2,9	0,1	14,9	1	2,9	0,1	14,9	2,1	1,9	2,3	
		POST	34	28	82,4	65,5	93,2	28	82,4	65,5	93,2	43,5	23,6	80,2	
		M24	26	13	50,0	29,9	70,1	11	42,3	23,4	63,1	8,1	4,1	15,7	
		M36	29	11	37,9	20,7	57,7	11	37,9	20,7	57,7	5,6	3,3	9,6	
		M48	33	15	45,5	28,1	63,6	15	45,5	28,1	63,6	10,7	4,8	23,8	
M49	35	35	100	90,0	100	35	100	90,0	100	8474,8	5787,3	12410,2			
M60	33	33	100	89,4	100	33	100	89,4	100	931,1	572,8	1513,4			
MenC-CRM		PRE	35	1	2,9	0,1	14,9	1	2,9	0,1	14,9	2,1	1,9	2,3	
		POST	34	28	82,4	65,5	93,2	28	82,4	65,5	93,2	43,5	23,6	80,2	
		M24	26	13	50,0	29,9	70,1	11	42,3	23,4	63,1	8,1	4,1	15,7	

(continuación)

**Tabla 7:** Porcentaje de sujetos con títulos de hSBA iguales o superiores a los valores de corte de 1:4 y 1:8 y GMT (cohorte de ATP para la persistencia en el mes 60)

Anticuerpo	Grupo	Momento	N	≥1:4				≥1:8				GMT					
				%	n	LL	UL	%	n	LL	UL	valor	LL	UL	LL	UL	
																	IC 95 %
hSBA-MenW-135	MenACWY -TT	PRE	227	1	0,4	0,0	2,4	1	0,4	0,0	2,4	176	83,0	77,3	87,8	2,0	2,1
		POST	212	177	83,5	77,8	88,2	176	83,0	77,3	87,8	47,7	37,4	60,9			
		M24	190	176	92,6	87,9	95,9	173	91,1	86,1	94,7	81,5	64,9	102,5			
		M36	212	173	81,6	75,7	86,6	173	81,6	75,7	86,6	53,6	41,7	69,0			
		M48	171	139	81,3	74,6	86,8	138	80,7	74,0	86,3	48,3	36,9	63,4			
		M49	203	203	100	98,2	100	203	100	98,2	100	13996,3	12637,4	15501,3			
	M60	218	218	100	98,3	100	218	100	98,3	100	2196,6	1955,7	2467,2				
	MenCCRM	PRE	35	0	0,0	0,0	10,0	0	0,0	0,0	10,0	2,0	2,0	2,0			
		POST	34	1	2,9	0,1	15,3	1	2,9	0,1	15,3	2,2	1,8	2,6			
		M24	30	0	0,0	0,0	11,6	0	0,0	0,0	11,6	2,0	2,0	2,0			
		M36	31	2	6,5	0,8	21,4	2	6,5	0,8	21,4	2,4	1,8	3,2			
		M48	28	2	7,1	0,9	23,5	2	7,1	0,9	23,5	2,6	1,8	3,6			
M49		27	2	7,4	0,9	24,3	2	7,4	0,9	24,3	2,7	1,8	4,2				
hSBA-MenY	MenACWY -TT	M60	31	5	16,1	5,5	33,7	5	16,1	5,5	33,7	3,4	2,2	5,4			
		PRE	221	1	0,5	0,0	2,5	1	0,5	0,0	2,5	2,0	2,0	2,1			
		POST	212	168	79,2	73,2	84,5	168	79,2	73,2	84,5	30,8	24,4	38,8			
		M24	167	141	84,4	78,0	89,6	141	84,4	78,0	89,6	55,4	42,1	72,9			
		M36	209	151	72,2	65,7	78,2	148	70,8	64,1	76,9	32,5	24,7	42,8			
		M48	131	85	64,9	56,1	73,0	85	64,9	56,1	73,0	29,9	20,3	44,1			
	M49	184	184	100	98,0	100	184	100	98,0	100	6698,9	5934,8	7561,3				
	M60	206	206	100	98,2	100	206	100	98,2	100	1110,8	987,5	1249,6				
	MenC-CRM	PRE	35	1	2,9	0,1	14,9	1	2,9	0,1	14,9	2,3	1,7	3,0			
		POST	34	1	2,9	0,1	15,3	1	2,9	0,1	15,3	2,3	1,7	3,2			
		M24	27	5	18,5	6,3	38,1	5	18,5	6,3	38,1	4,2	2,2	8,1			
		M36	31	6	19,4	7,5	37,5	6	19,4	7,5	37,5	4,3	2,4	7,7			
M48		28	6	21,4	8,3	41,0	6	21,4	8,3	41,0	4,3	2,4	7,8				
M49		27	7	25,9	11,1	46,3	7	25,9	11,1	46,3	5,4	2,7	11,0				
M60	31	10	32,3	16,7	51,4	10	32,3	16,7	51,4	7,5	3,6	15,7					

(continuación)

GMT = media geométrica del título de anticuerpo en todos los sujetos

N = número de sujetos con resultados disponibles

n/% = número/porcentaje de sujetos con título dentro del intervalo especificado

IC 95 % = intervalo de confianza de 95 %; LL = Límite inferior, UL = límite superior

PRE = Día 0, pre-vacunación primaria

POST = 42 días después de la vacunación primaria con la vacuna meningocócica

M24 = 24 meses después de la vacunación primaria

M36 = 36 meses después de la vacunación primaria

M48 = 48 meses después de la vacunación primaria y antes de la vacunación de refuerzo

M49 = un mes después de la vacunación de refuerzo (Mes 49)

M60 = 12 meses después de la vacunación de refuerzo (Mes 60)

Nota: En el punto temporal 'POST', los sujetos del Grupo MMRV en el estudio primario que se incluyeron en el Grupo MenC-CRM en este estudio de persistencia todavía no habían recibido una vacuna meningocócica

## Referencias

- [1] Rosenstein NE, Perkins BA, Stephens DS, Popovic T, Hughes JM. Meningococcal disease. *N Engl J Med* 2001;344: 1378-1388.
- 5 [2] Cohn AC, MacNeil JR, Harrison LH, *et al.* Changes in *Neisseria meningitidis* disease epidemiology in the United States, 1998-2007: implications for prevention of meningococcal disease. *Clin Infect Dis* 2010;50: 184-191.
- [3] Harrison LH, Trotter CL, Ramsay ME. Global epidemiology of meningococcal disease. *Vaccine* 2009;27: B51-63.
- 10 [4] Pollard AJ. Global epidemiology of meningococcal disease and vaccine efficacy. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: S274-279.
- [5] Lingappa JR, Rosenstein N, Zell ER, Shutt KA, Schuchat A, Perkins BA. Surveillance for meningococcal disease and strategies for use of conjugate meningococcal vaccines in the United States. *Vaccine* 2001;19: 4566-4575.
- [6] Press Announcements - FDA approves new combination vaccine that protects children against two bacterial diseases. Available at: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm308350.htm>. Accessed 30 July 2012.
- 15 [7] Bryant KA, Marshall GS, Marchant CD, *et al.* Immunogenicity and safety of H influenzae type b-N meningitidis C/Y conjugate vaccine in infants. *Pediatrics* 2011;127: e1375-1385.
- [8] Nolan T, Lambert S, Robertson D, *et al.* A novel combined *Haemophilus influenzae* type b-*Neisseria meningitidis* serogroups C and Y-tetanus-toxoid conjugate vaccine is immunogenic and induces immune memory when coadministered with DTPa-HBV-IPV and conjugate pneumococcal vaccines in infants. *Vaccine* 2007;25: 8487-8499.
- 20 [9] Habermehl P, Leroux-Roels G, Sanger R, Mächler G, Boutriau D. Combined *Haemophilus influenzae* type b and *Neisseria meningitidis* serogroup C (HibMenC) or serogroup C and Y-tetanus toxoid conjugate (and HibMenCY) vaccines are well-tolerated and immunogenic when administered according to the 2, 3, 4 months schedule with a fourth dose at 12-18 months of age. *Hum Vaccin* 2010;6: 640-651.
- 25 [10] Marshall GS, Marchant CD, Blatter M, Friedland LR, Aris E, Miller JM. Co-administration of a novel *Haemophilus influenzae* type b and *Neisseria meningitidis* serogroups C and Y-tetanus toxoid conjugate vaccine does not interfere with the immune response to antigens contained in infant vaccines routinely used in the United States. *Hum Vaccin* 2011; 7: 258-264.
- [11] Marchant CD, Miller JM, Marshall GS, *et al.* Randomized trial to assess immunogenicity and safety of *Haemophilus influenzae* type b and *Neisseria meningitidis* serogroups C and Y-tetanus toxoid conjugate vaccine in infants. *Pediatr Infect Dis J* 2010;29: 48-52.
- 30 [12] Rinderknecht S, Bryant K, Nolan T, *et al.* The safety profile of *Haemophilus influenzae* type b-*Neisseria meningitidis* serogroups C and Y tetanus toxoid conjugate vaccine (HibMenCY). *Hum Vaccin Immunother* 2012; 8(3). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22327493>. Accessed 29 February 2012.
- 35 [13] Marshall GS, Marchant CD, Blatter M, *et al.* Immune response and one-year antibody persistence after a fourth dose of a novel *Haemophilus influenzae* type b and *Neisseria meningitidis* serogroups C and Y-tetanus toxoid conjugate vaccine (HibMenCY) at 12 to 15 months of age. *Pediatr Infect Dis J* 2010;29: 469-471.
- [14] Nolan T, Richmond P, Marshall H, *et al.* Immunogenicity and safety of an investigational combined *Haemophilus influenzae* type B-*Neisseria meningitidis* serogroups C and Y-tetanus toxoid conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 2011;30: 190-196.
- 40 [15] Recommendation of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) for use of quadrivalent meningococcal conjugate vaccine (MenACWY-D) among children aged 9 through 23 months at increased risk for invasive meningococcal disease. Available at: [http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6040a4.htm?s\\_cid=mm6040a4\\_e%0d%0a](http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6040a4.htm?s_cid=mm6040a4_e%0d%0a). Accessed 13 January 2012.
- 45 [16] Ostergaard L, Lebacqz E, Poolman J, Maechler G, Boutriau D. Immunogenicity, reactogenicity and persistence of meningococcal A, C, W-135 and Y-tetanus toxoid candidate conjugate (MenACWY-TT) vaccine formulations in adolescents aged 15-25 years. *Vaccine* 2009;27: 161-168.
- 50 [17] Knuf M, Kieninger-Baum D, Habermehl P, *et al.* A dose-range study assessing immunogenicity and safety of one dose of a new candidate meningococcal serogroups A, C, W-135, Y tetanus toxoid conjugate (MenACWY-TT) vaccine administered in the second year of life and in young children. *Vaccine* 2010;28: 744-753.
- [18] Baxter R, Baine Y, Ensor K, Bianco V, Friedland LR, Miller JM. Immunogenicity and safety of an investigational quadrivalent meningococcal ACWY tetanus toxoid conjugate vaccine in healthy adolescents and young adults 10 to 25 years of age. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30: e41-48.
- 55 [19] Vesikari T, Karvonen A, Bianco V, Van der Wielen M, Miller J. Tetravalent meningococcal serogroups A, C, W-135 and Y conjugate vaccine is well tolerated and immunogenic when co-administered with measles-mumps-rubella-varicella vaccine during the second year of life: An open, randomized controlled trial. *Vaccine* 2011; 29: 4274-4284.
- 60 [20] Memish ZA, Dbaibo G, Montellano M, *et al.* Immunogenicity of a single dose of tetravalent meningococcal serogroups A, C, W-135, and Y conjugate vaccine administered to 2- to 10-year-olds is noninferior to a licensed-ACWY polysaccharide vaccine with an acceptable safety profile. *Pediatr Infect Dis J* 2011;30: e56-62.
- [21] Knuf M, Pantazi-Chatzikonstantinou A, Pfletschinger U, *et al.* An investigational tetravalent meningococcal serogroups A, C, W-135 and Y-tetanus toxoid conjugate vaccine co-administered with Infanrix™ hexa is immunogenic, with an acceptable safety profile in 12-23-month-old children. *Vaccine* 2011;29: 4264-4273.
- 65 [22] Bernal N, Huang L-M, Dubey A, *et al.* Safety and immunogenicity of a tetravalent meningococcal serogroups

A, C, W-135 and Y conjugate vaccine in adolescents and adults. *Hum Vaccin* 2011;7: 239-247.

[23] Dbaibo G, Macalalad N, Reyes MRA-DL, *et al.* The immunogenicity and safety of an investigational meningococcal serogroups A, C, W-135, Y tetanus toxoid conjugate vaccine (ACWY-TT) compared with a licensed meningococcal tetravalent polysaccharide vaccine: A randomized, controlled non-inferiority study. *Hum Vaccin Immunother* 2012; 8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22485050>. Accessed 22 June 2012.

[24] Leonardi M, Latiolais T, Sarpong K, *et al.* Immunogenicity and reactogenicity of co-administration of Infanrix™ with meningococcal MenACWY-TT conjugate vaccine in toddlers primed with MenHibrix™ and Pediarix™.

[25] Interim recommendations for the use of *Haemophilus influenzae* type b (Hib) conjugate vaccines related to the recall of certain lots of Hib-containing vaccines (PedvaxHIB and Comvax). *MMWR* 2007;56: 1318-1320.

[26] Schmitt H-J, Maechler G, Habermehl P, *et al.* Immunogenicity, reactogenicity, and immune memory after primary vaccination with a novel *Haemophilus influenzae*-*Neisseria meningitidis* serogroup C conjugate vaccine. *Clin. Vaccine Immunol* 2007;14: 426-434.

[27] Kitchin NRE, Southern J, Morris R, *et al.* Evaluation of a diphtheria-tetanus-acellular pertussis-inactivated poliovirus-*Haemophilus influenzae* type b vaccine given concurrently with meningococcal group C conjugate vaccine at 2, 3 and 4 months of age. *ArchDis Child* 2007;92: 11-16.

[28] Diez-Domingo J, Cantarino MVP, Torrentí JMB, *et al.* A randomized, multicenter, open-label clinical trial to assess the immunogenicity of a meningococcal C vaccine booster dose administered to children aged 14 to 18 months. *Pediatr Infect Dis J* 2010;29: 148-152.

[29] Khatami A, Snape MD, John T, *et al.* Persistence of immunity following a booster dose of *Haemophilus influenzae* type B-Meningococcal serogroup C glycoconjugate vaccine: follow-up of a randomized controlled trial. *Pediatr Infect Dis J* 2011;30: 197-202.

[30] Bhattacharjee AK, Jennings HJ, Kenny CP, Martin A, Smith IC. Structural determination of the polysaccharide antigens of *Neisseria meningitidis* serogroups Y, W-135 y BO1. *Can J Biochem* 1976; 54:1-8.

## REIVINDICACIONES

1. Una vacuna conjugada contra *N. meningitidis* para su uso en la prevención o tratamiento de la enfermedad por *N. meningitidis* en donde un paciente humano se inmuniza en un esquema que comprende las etapas a) y b) en donde:
- 5 la etapa a) inmuniza al paciente humano en una primera edad de entre 0 y 11 meses con una vacuna conjugada de sacárido bacteriano que comprende al menos dos o tres sacáridos bacterianos conjugados con una proteína de vehículo para formar al menos dos o tres conjugados de sacáridos bacterianos, en donde los al menos dos o tres sacáridos bacterianos de la etapa (a) comprenden un sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo C (MenC); y
- 10 la etapa b) inmuniza al paciente humano en una segunda edad de entre 12 y 24 meses con una vacuna conjugada contra *Neisseria meningitidis* que comprende sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo A (MenA), sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo C (MenC), sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo W135 (MenW135), y sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo Y (MenY) conjugados por separado con una proteína de vehículo, en donde la vacuna conjugada contra *Neisseria meningitidis* se coadministra con una vacuna DTPa.
- 15 2. La vacuna conjugada contra *N. meningitidis* para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los al menos dos o tres sacáridos bacterianos de la etapa (a) comprenden un sacárido de *Haemophilus influenza* (Hib).
- 20 3. La vacuna conjugada contra *N. meningitidis* para su uso de acuerdo con una cualquiera de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde los al menos dos o tres sacáridos bacterianos de la etapa (a) comprenden un sacárido capsular de *N. meningitidis* serogrupo Y (MenY).
- 25 4. La vacuna conjugada contra *N. meningitidis* para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la proteína de vehículo de la etapa a) es toxoide tetánico, toxoide diftérico o CRM197.
- 30 5. La vacuna conjugada contra *N. meningitidis* para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la proteína de vehículo de la etapa a) es toxoide tetánico, opcionalmente a un contenido total de TT de 5-40, 10-30, 15-20 µg o aproximadamente 18 µg por dosis.
- 35 6. La vacuna conjugada contra *N. meningitidis* para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la inmunización de la etapa a) implica la administración de 2 o 3 dosis del conjugado de sacárido bacteriano, opcionalmente a los 2, 4 y 6 meses de edad.
- 40 7. La vacuna conjugada contra *N. meningitidis* para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la coadministración de la vacuna conjugada contra *Neisseria meningitidis* y la vacuna que comprende toxina diftérica y toxina tetánica en la etapa b) conduce a un aumento de al menos un 10 % en la inmunogenicidad contra al menos uno de MenA, MenC, MenW135 o MenY en comparación con cuando la vacuna conjugada contra *Neisseria meningitidis* se administra sola, opcionalmente medido mediante un ensayo de SBA.
- 45 8. La vacuna conjugada contra *N. meningitidis* para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde durante la etapa a) la vacuna conjugada de sacárido bacteriano se administra al mismo tiempo que una vacuna que comprende DTP.
- 50 9. La vacuna conjugada contra *N. meningitidis* para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la proteína de vehículo de la etapa b) se selecciona del grupo que consiste en toxoide tetánico, toxoide diftérico o CRM197.
10. La vacuna conjugada contra *N. meningitidis* para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la proteína de vehículo de la etapa a) y la proteína de vehículo de la etapa b) son iguales.

Figura 1

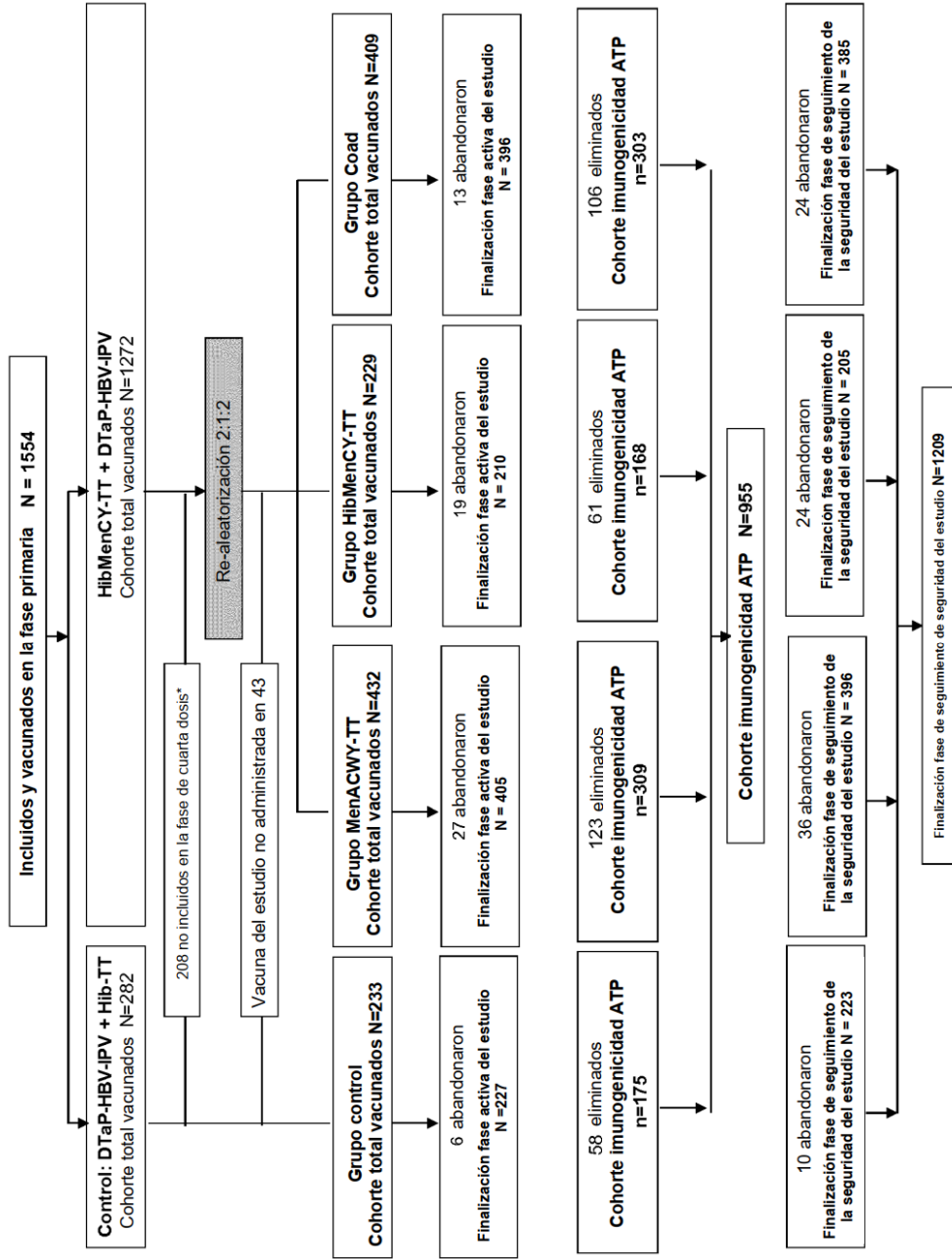


Figura 2

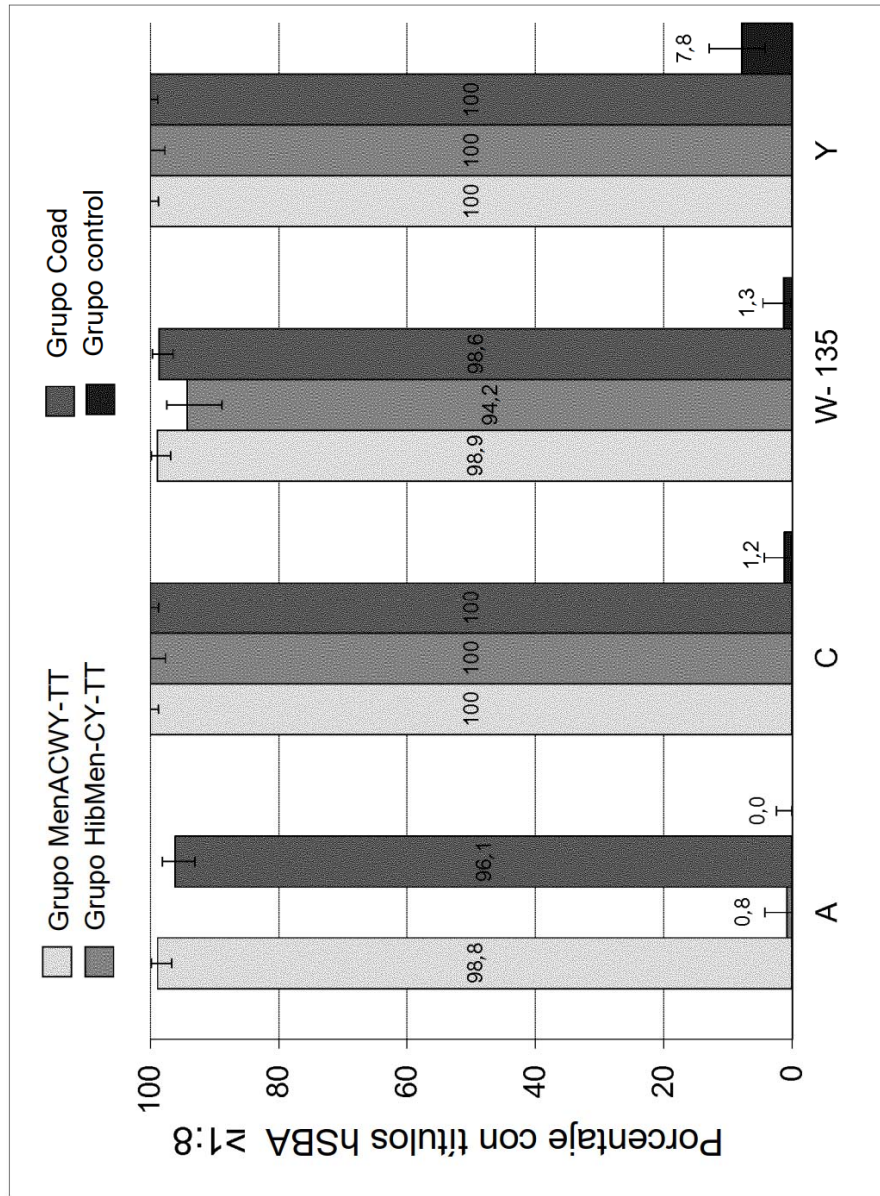


Figura 3

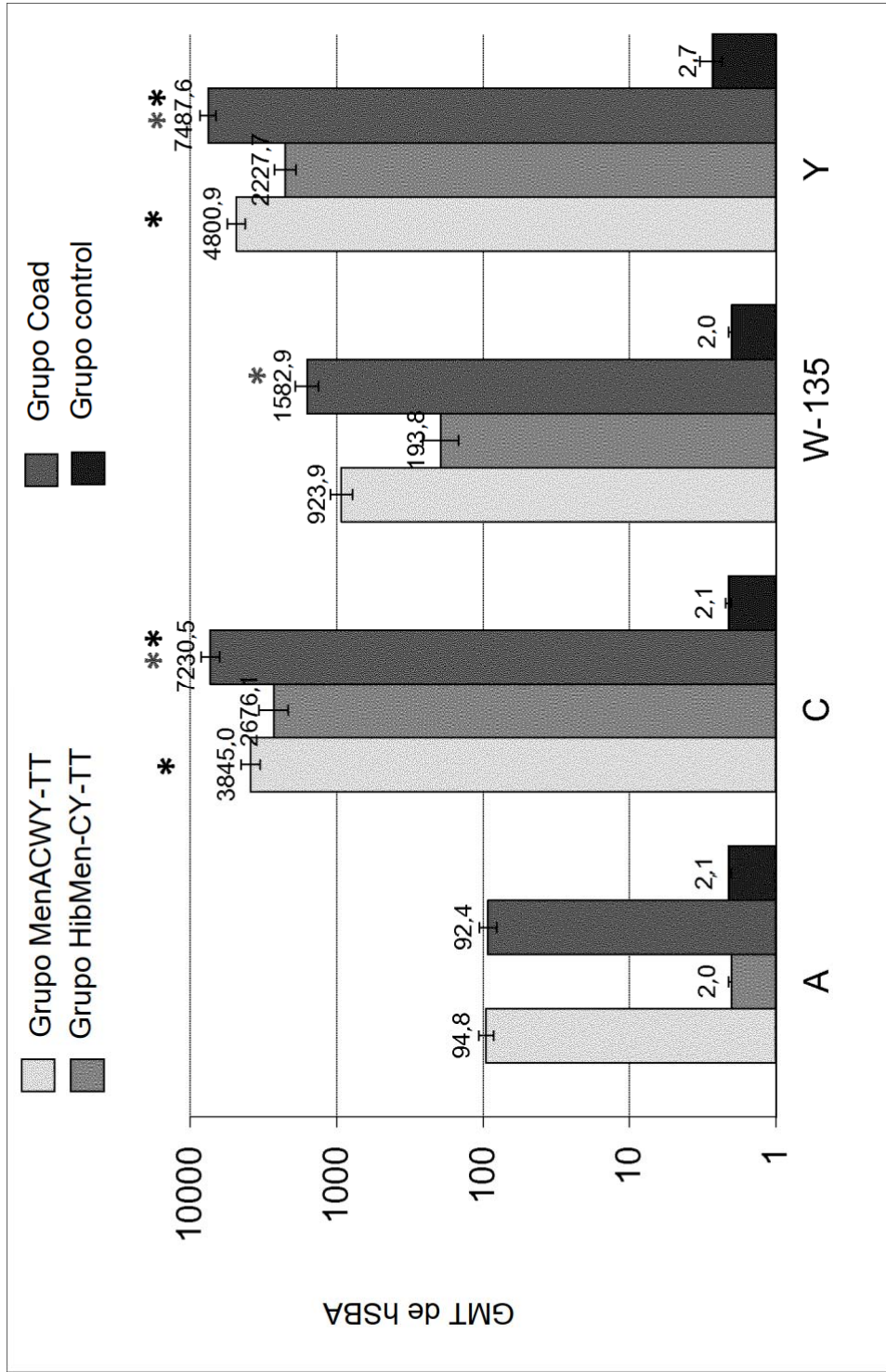
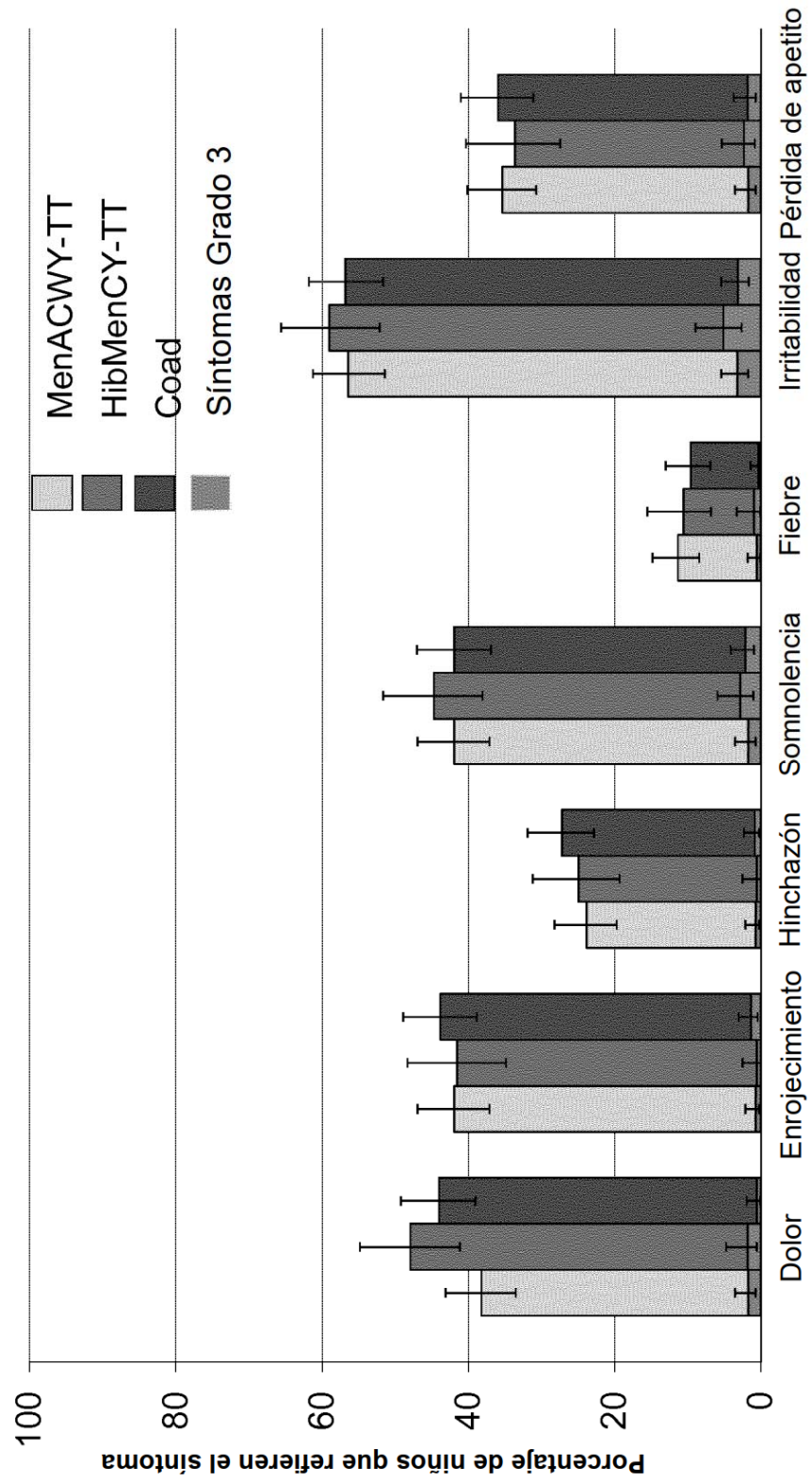


Figura 4



**Tabla 1** Diseño del estudio

Nombre del grupo	Vacunación fase primaria*	Vacunación fase cuarta dosis*				
		12-15 meses (Visita 4)	1 mes post vacunación (Visita 5)	15-18 meses (Visita 6)	1 mes post vacunación (Visita 7)	
<b>2, 4, 6 meses</b>		<b>Vacunación</b>	<b>Extracción de sangre</b>	<b>Extracción de sangre</b>	<b>Vacunación</b>	<b>Extracción de sangre</b>
MenACWY-TT	HibMenCY-TT + DTaP-HBV-IPV	MenACWY-TT	Sí	-	DTaP	Sí
HibMenCY-TT	HibMenCY-TT + DTaP-HBV-IPV	HibMenCY-TT	Sí	-	DTaP	Sí
Coad	HibMenCY-TT + DTaP-HBV-IPV	Sin vacunación	-	Sí	MenACWY-TT + DTaP	Sí
Control	Hib-TT + DTaP-HBV-IPV	Sin vacunación	-	-	DTaP	Sí

Las áreas sombreadas indican la vacunación y los puntos temporales de extracción de sangre descritos en el presente trabajo.\* Se permitió a todos los sujetos recibir vacunas de rutina recomendadas por el Comité Asesor sobre Prácticas de Inmunización. En el caso de las vacunas de las paperas, rubeola, varicela, hepatitis A y Hib, la vacunación debía ser  $\geq$  30 días antes o después de la administración de las vacunas del estudio. La escasez de la vacuna conjugada Hib en los EE. UU. en el momento del estudio llevó al ACIP a recomendar el aplazamiento de la dosis de refuerzo de Hib para todos los niños pequeños para que la vacuna conjugada Hib se administrase preferencialmente a los lactantes que son los que tienen el mayor riesgo de enfermedad por Hib invasiva. En cumplimiento con esta recomendación, no se administraron los refuerzos de Hib a nadie, salvo a los del grupo HibMenCY-TT. Otros grupos recibieron la cuarta dosis de la vacuna conjugada Hib cuando se resolvió la situación de escasez.

**Tabla 2** Resultados del análisis de inferencia para los antígenos meningocócicos administrados a los 12-15 o 15-18 meses de edad (Objetivos principales: cohorte de inmunogenicidad ATP, Fase de cuarta dosis).

Objetivo	Criterio de valoración	Criterios	Serogrupo	Valor	[IC 95%]	¿Criterio cumplido
No inferioridad de MenACWY-TT vs HibMenCY-TT	títulos de hSBA $\geq 1:8$	LL del IC 95% bilateral para la diferencia (MenACWY-TT - HibMenCY-TT) es $\geq -10\%$	C	0,0	[-1,33; 2,42]	Sí
Inmunogenicidad de MenACWY-TT		LL del IC 95% bilateral es $\geq 80\%$	A	98,8	[96,6; 99,8]	Sí
No inferioridad de Coad vs HibMenCY-TT	títulos de hSBA $\geq 1:8$	LL del IC 95% bilateral para la diferencia (Coad-HibMenCY-TT) es $\geq -10\%$	W-135 C	98,9 0,0	[96,8; 99,8] [-1,30; 2,42]	Sí
Inmunogenicidad de MenACWY-TT + DTaP		LL del IC 95% bilateral (grupo Coad) es $\geq 80\%$	Y	0,0	[-1,25; 2,39]	Sí
No inferioridad de MenACWY-TT vs HibMenCY-TT	relación GMT hSBA	LL del IC 95% de la relación (MenACWY/HibMenCY-TT) es $\geq 0,5$	A W-135 C	96,1 98,6 1,44	[93,0; 98,1] [96,4; 99,6] [1,11; 1,87]	Sí
No inferioridad de Coad vs HibMenCY-TT		LL del IC 95% bilateral para la relación (Coad/HibMenCY-TT) es $\geq 0,5$	Y C Y	2,16 2,70 3,36	[1,71; 2,71] [2,08; 3,50] [2,72; 4,15]	Sí*

IC 95% - intervalo de confianza del 95 por ciento; LL - límite inferior del IC del 95%; GMT - media geométrica del título de anticuerpo, ATP - según protocolo.

\*Los objetivos principales se concluyeron de manera jerárquica. Uno de los criterios de no inferioridad para los objetivos de coadministración relacionados con la vacuna anti-pertussis (descrito en otro lugar) no se cumplió. Por consiguiente, para los objetivos subsiguientes (indicados más arriba con\*), no se pudo

**Tabla 3 (Complementaria):** Detalles sobre los motivos por los que los sujetos abandonaron el estudio o se eliminaron de la cohorte según protocolo (ATP).

	Grupo		
	Control	MenACWY-TT	HibMenCY-TT
Abandonos antes de la finalización de la fase activa del estudio	6 abandonos: perdidos para el seguimiento (5), otros (1).	27 abandonos: acont. adversos (1), violación del protocolo (2), retirada del consentimiento (4); traslado del área de estudio (3), pérdida para el seguimiento (14), otros (3)	19 abandonos: acont. adversos graves (1), violación del protocolo (3), retirada del consentimiento (3); pérdida para el seguimiento (10), otros (2)
Abandonos antes de la finalización de la fase de seguridad extendida	10 abandonos: retirada del consentimiento (1), pérdida para el seguimiento (9)	36 abandonos: retirada del consentimiento (7), pérdida para el seguimiento (29)	24 abandonos: retirada del consentimiento (2), pérdida para el seguimiento (22)
Eliminados de la cohorte de inmunogenicidad ATP	58 eliminados: recibieron la vacuna prohibida (3), ilegibles (4), eliminados durante la fase primaria (16), no cumplieron con la extracción de sangre (12), faltan datos de serología (23)	123 eliminados: recibieron la vacuna prohibida (17), fallo de aleatorización (6), ilegibles (13), eliminados durante la fase primaria (27), no cumplieron con la extracción de sangre (38), faltan datos de serología (22)	106 eliminados: recibieron la vacuna prohibida (4), ilegibles (4), eliminados durante la fase primaria (34), no cumplieron con la extracción de sangre (21), faltan datos de serología 43)
			13 abandonos: retirada del consentimiento (4), pérdida para el seguimiento (8), otro (1)
			24 abandonos: retirada del consentimiento (3), pérdida para el seguimiento (21)

**Tabla 4 (Complementaria):** Resumen de las características demográficas (cohorte de inmunogenicidad ATP, Fase cuarta dosis)

Característica	MenACWY-TT N = 309		HibMenCY-TT N = 168		Coad N = 303		Control N = 175	
Edad en la visita 6 (meses)	Media (DE)	15,2 (0,53)	15,3 (0,54)	15,3 (0,60)	15,3 (0,64)			
	Intervalo	15-18	15-17	15-18	15-18			
Sexo	Mujeres n(%)	150 (48,5)	86 (51,2)	138 (45,5)	97 (55,4)			
	Hombres n(%)	159 (51,5)	82 (48,8)	165 (54,5)	78 (44,6)			
Raza	Africanos/Afroamericanos n(%)	33 (10,7)	19 (11,3)	15 (5,0)	8 (4,6)			
	Indios americanos/Nativos de Alaska n(%)	1 (0,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)			
	Asiáticos del Centro/Sur n(%)	1 (0,3)	0 (0,0)	1 (0,3)	0 (0,0)			
	Lejano Oriente n(%)	1 (0,3)	1 (0,6)	1 (0,3)	1 (0,6)			
	Japoneses n(%)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,6)			
	Sudeste asiático n(%)	1 (0,3)	1 (0,6)	2 (0,7)	0 (0,0)			
	Nativos hawaianos/Isleños del Pacífico n(%)	0 (0,0)	1 (0,6)	0 (0,0)	0 (0,0)			
	Árabes/Norteafricanos n(%)	5 (1,6)	0 (0,0)	4 (1,3)	3 (1,7)			
	Caucásicos/Europeos n(%)	243 (78,6)	130 (77,4)	251 (82,8)	144 (82,3)			
	Otros n(%)	24 (7,8)	16 (9,5)	29 (9,6)	18 (10,3)			

N = número total de sujetos

n% = número / porcentaje de sujetos en una categoría dada

DE = desviación estándar

ATP = según protocolo

**Tabla 5:** Porcentaje de sujetos que notifican acontecimientos adversos específicos desde la dosis 1 hasta los 6 meses después de la cuarta dosis (Cohorte de total de vacunados con la cuarta dosis, fases de dosis primaria y cuarta dosis)

	MenACWY-TT			HibMenCY-TT			Coad			Control		
	n	% (IC 95%)	N = 432	n	% (IC 95%)	N = 229	n	% (IC 95%)	N = 409	n	% (IC 95%)	N = 233
Al menos un síntoma	245	56,7 (51,9; 61,4)		140	61,1 (54,5; 67,5)		226	55,3 (50,3; 60,1)		105	45,1 (38,6; 51,7)	
AAG	30	6,9 (4,7; 9,8)		11	4,8 (2,4; 8,4)		26	6,4 (4,2; 9,2)		10	4,3 (2,1; 7,8)	
Nueva aparición de enfermedad crónica	67	15,5 (12,2; 19,3)		29	12,7 (8,6; 17,7)		66	16,1 (12,7; 20,1)		36	15,5 (11,1; 20,7)	
Hipersensibilidad farmacológica	12	2,8 (1,4; 4,8)		7	3,1 (1,2; 6,2)		9	2,2 (1,0; 4,1)		5	2,1 (0,7; 4,9)	
Alergia alimentaria	5	1,2 (0,4; 2,7)		1	0,4 (0,0; 2,4)		2	0,5 (0,1; 1,8)		2	0,9 (0,1; 3,1)	
Hipersensibilidad	2	0,5 (0,1; 1,7)		0	0,0 (0,0; 1,6)		0	0,0 (0,0; 0,9)		1	0,4 (0,0; 2,4)	
Alergia a la leche	1	0,2 (0,0; 1,3)		0	0,0 (0,0; 1,6)		2	0,5 (0,1; 1,8)		1	0,4 (0,0; 2,4)	
Alergias múltiples	2	0,5 (0,1; 1,7)		1	0,4 (0,0; 2,4)		2	0,5 (0,1; 1,8)		0	0,0 (0,0; 1,6)	
Alergia estacional	3	0,7 (0,1; 2,0)		2	0,9 (0,1; 3,1)		2	0,5 (0,1; 1,8)		4	1,7 (0,5; 4,3)	
Inmunodeficiencia por IgA selectiva	0	0,0 (0,0; 0,9)		0	0,0 (0,0; 1,6)		1	0,2 (0,0; 1,4)		0	0,0 (0,0; 1,6)	
Hipotonia	0	0,0 (0,0; 0,9)		0	0,0 (0,0; 1,6)		0	0,0 (0,0; 0,9)		1	0,4 (0,0; 2,4)	
Asma	11	2,5 (1,3; 4,5)		2	0,9 (0,1; 3,1)		7	1,7 (0,7; 3,5)		3	1,3 (0,3; 3,7)	
Hiperreactividad bronquial	10	2,3 (1,1; 4,2)		4	1,7 (0,5; 4,4)		12	2,9 (1,5; 5,1)		5	2,1 (0,7; 4,9)	
Rinitis alérgica	4	0,9 (0,3; 2,4)		4	1,7 (0,5; 4,4)		6	1,5 (0,5; 3,2)		7	3,0 (1,2; 6,1)	
Alopecia areata	0	0,0 (0,0; 0,9)		1	0,4 (0,0; 2,4)		0	0,0 (0,0; 0,9)		0	0,0 (0,0; 1,6)	
Dermatitis alérgica	3	0,7 (0,1; 2,0)		1	0,4 (0,0; 2,4)		0	0,0 (0,0; 0,9)		1	0,4 (0,0; 2,4)	
Dermatitis atópica	5	1,2 (0,4; 2,7)		0	0,0 (0,0; 1,6)		10	2,4 (1,2; 4,5)		2	0,9 (0,1; 3,1)	
Dermatitis de contacto	3	0,7 (0,1; 2,0)		1	0,4 (0,0; 2,4)		3	0,7 (0,2; 2,1)		1	0,4 (0,0; 2,4)	
Erupción medicamentosa	1	0,2 (0,0; 1,3)		0	0,0 (0,0; 1,6)		0	0,0 (0,0; 0,9)		0	0,0 (0,0; 1,6)	
Eczema	16	3,7 (2,1; 5,9)		7	3,1 (1,2; 6,2)		18	4,4 (2,6; 6,9)		6	2,6 (1,0; 5,5)	
Exantema	1	0,2 (0,0; 1,3)		0	0,0 (0,0; 1,6)		0	0,0 (0,0; 0,9)		0	0,0 (0,0; 1,6)	

	MenACWY-TT		HibMenCY-TT		Coad		Control	
	N = 432	N = 229	N = 409	N = 233	n	% (IC 95%)	n	% (IC 95%)
Exantema*	120	64	106	48	27,8 (23,6; 32,3)	27,9 (22,2; 34,2)	25,9 (21,7; 30,5)	20,6 (15,6; 26,4)
Atención en urgencias	145	92	145	57	33,6 (29,1; 38,2)	40,2 (33,8; 46,8)	35,5 (30,8; 40,3)	24,5 (19,1; 30,5)

Al menos un síntoma = al menos un síntoma experimentado (independientemente de la clasificación primaria por órganos y sistemas del MedDRA)

N = número de sujetos con al menos una dosis administrada

n/% = número/porcentaje de sujetos que notifican el síntoma al menos una vez

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

\*desde la cuarta dosis hasta 6 meses después de la cuarta dosis