

RAD: 11-177205- -7	FECHA: 2014-03-07 19:20:49
DEP: 2020 DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES	EVE: 378 FASE NACIONAL INCLUIDO CAPITULO I
TRA: 11 PCT-PATENTE DE INVENCION CAPITULOS I Y II	FOLIOS: 11
ACT: 519 PRESENTACION	

Abogado(a)/Señor(a)
CARLOS REINALDO OLARTE GARCIA

Asunto:	Radicación:	11-177205- -7
	Trámite:	11
	Evento:	378
	Actuación:	519
	Oficio:	3088
	Folios:	11

Patente de Invención	X			Patente de Modelo de Utilidad	
Vía Nacional					
Vía PCT (Fase Nacional)	X	Capítulo I	X	Capítulo II	
No. Solicitud Internacional	PCT/US2010/039473				
Fecha de Presentación Internacional	22/06/2010				

Descripción:	Radicación 11-177205-00000	22/Diciembre/2011
Reivindicaciones:	Radicación 11-177205-00000	22/Diciembre/2011
	Radicación 11-177205-00006	06/Febrero/2013
Prioridad(es):	61/219.143	22/Junio/2009
	61/219.151	22/Junio/2009

Las modificaciones a las reivindicaciones (1 a 33) presentadas con el Rad. N° 11-177205-00006-0000 del 06 de febrero de 2013 se aceptan porque no implican ampliación del objeto de la solicitud originalmente divulgada.

4. Objeto de la invención

De acuerdo con lo establecido en el numeral 1.2.2.2 del Título X de la Circular Única para efectos del examen de patentabilidad, se tendrá en cuenta la tasa pagada por el solicitante al momento de comenzar el examen para las reivindicaciones adicionales; esto es que cuando la solicitud contenga más de diez (10) reivindicaciones y no se haya pagado la tasa complementaria, sólo se estudiarán las cubiertas por la tasa pagada. En el presente caso se estudiarán las reivindicaciones 1 a 33 del capítulo reivindicatorio modificado.

Título de la solicitud: “Composiciones y procedimientos para preparar composiciones inmunogénicas de conjugado de polisacárido capsular de serotipo 5 y 8 de *Staphylococcus aureus*”.

El problema planteado en esta solicitud consiste en la necesidad de evitar infecciones y enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus* debido a que por su capacidad de producir antígenos extra e intracelulares, incluyendo toxinas y enzimas, se ha detectado que los serotipos 5 y 8 de polisacárido capsular de *S. aureus* son causantes de un gran porcentaje de las infecciones ocasionadas por el uso de dispositivos intravasculares y de procedimientos invasivos y paralelamente por la resistencia a antibióticos.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona un conjugado de polisacárido-proteína inmunogénico que comprende un polisacárido capsular de *Staphylococcus aureus* conjugado con una proteína de portador, en el que el polisacárido tiene un peso molecular de entre 200kDa y 5000kDa o entre 500kDa y 2500kDa, en el que el polisacárido capsular es de serotipo 5 o de serotipo 8, presenta un grado de O-acetilación de entre 10 y 100% y la proteína portadora es CRM197 enlazada covalentemente a través de un enlace carbamato o amida al polisacárido por medio del a.a. lisina.

El objeto de la presente solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP): A61K39/085.

5. Excepción a la Patentabilidad (Art 20 D 486 literal d))

El procedimiento de inducción de respuesta inmune contra *S. aureus* es un método de tratamiento y no puede ser patentable según el Art. 20 lit. d).

6. De la solicitud de patente

Título

Se invita a la solicitante a presentar un nuevo título en el que se indique que el conjugado se fabrica con el portador CRM197 y el polisacárido capsular de *S. aureus* serotipo 5 u 8.

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

Teniendo en cuenta el objeto reivindicado se sugiere incluir en la reivindicación independiente el origen de la proteína portadora que forma parte de la estructura del conjugado, indicando que se trata del polipéptido del toxoide de Difteria CRM197 e indicando la química de conjugación con CDI (1,1-carbonildiimidazol), CDT (1,1-carboil-di-1,2,4-triazol) o PDPH (3-(2-piridiltio)-propionil-hidrazida).

La reivindicación 6 que hace referencia a la proteína portadora CRM197 unida de forma covalente con el polisacárido presenta errores tipográficos o de transcripción dado que señala enlaces carbamato, amida y otro tipo de enlace que no fue transcrito. Se sugiere realizar las correcciones a que haya lugar.

Las reivindicaciones 4 y 11 hacen referencia a rangos en términos de porcentaje, la primera frente al porcentaje de O-acetilación del polisacárido entre 10 y 100% o 50 y 100% o entre 75 y 100% y la segunda frente al porcentaje de polisacárido libre tipo 5 u 8 en la composición inmunogénica que es de 30 o menos del 20%. Al respecto es pertinente señalar que la referencia a porcentajes de acetilación no es admisible por cuanto no permite establecer la estructura con precisión. De acuerdo con las reivindicaciones las posiciones que se encuentran O-acetiladas en la estructura del polisacárido puede llegar a ser de solo el 10 hasta incluso el 100% de la estructura y esto implica un rango amplio que no se encuentra debidamente sustentado en la descripción y que tampoco permite realizar una comparación inequívoca frente al estado de la técnica. Por otra parte, frente a los porcentajes incluidos en las composiciones reivindicadas tampoco permite tener certeza de la cantidad de polisacárido libre frente al conjugado con el portador de toxoide de difteria CRM197. Por lo anterior, se sugiere realizar los ajustes necesarios.

7. Determinación del Estado de la Técnica

El estado de la técnica se determinó con base en la fecha de presentación de la prioridad reivindicada: Febrero 05 de 2009 y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud.

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	WO2007113222	"Immunogenic composition"	11/Octubre/2007
D2	Fattom, Ali I.	"Development of StaphVAX™, a polysaccharide conjugate vaccine against S. aureus infection: from the lab bench to phase III clinical trials"	2004
D3	WO2007113223	"Immunogenic composition"	11/Octubre/2007

El documento D1¹ divulga una composición inmunogénica que comprende polisacárido u oligosacárido capsular de S. aureus que tiene un porcentaje de 30 a 100% de O-acetilación. El documento también divulga las vacunas y los métodos de tratamiento (Resumen). Por otra parte, el documento D1 divulga una composición inmunogénica que incluye un portador seleccionado de toxoide de difteria CRM197 (Reivindicación 16, Pág. 86) y los procedimientos para preparar conjugados (Ejs. 5 y 6, Págs. 66 a 74) con EDAC y dPNAG con toxoide tetánico (TT). El documento divulga además que los PNAG presentan un peso molecular de 75 a 400kDa (Pág.

1 [http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?](http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=EPODOC&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20071011&CC=WO&NR=2007113222A2&KC=A2)

DB=EPODOC&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20071011&CC=WO&NR=2007113222A2&KC=A2

5).

El documento D2 divulga una vacuna que incluye un polisacárido de S. aureus serotipo 5 u 8 conjugado con una proteína portadora (Resumen).

El documento D3² divulga conjugados de poli N-acetilados de glucosamina (PNAG)m, que son polisacáridos intercelulares tipo adhesinas que presentan grupos N-acetilo y que están presentes en S. aureus, con proteínas portadoras como CRM197 (Resumen y Reivindicación 22 y 52, Págs. 88 y 90). El documento divulga de forma específica la preparación de conjugados de polisacárido capsular tipo 8-TT de S. aureus usando EDAC con toxoide tetánico (Ej. 5, Pág. 66). El ejemplo 6 divulga el método de preparación de conjugados de polisacárido capsular de S. aureus tipo 8 O-acetilado con toxoide tetánico (Págs. 69 y 70).

8. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Novedad (Art 16 D 486)

La reivindicación 1 consiste en un conjugado de polisacárido-proteína inmunogénico que comprende un polisacárido capsular de Staphylococcus aureus conjugado con una proteína de portador, en el que el polisacárido tiene un peso molecular de entre 20kDa y 1000kDa o entre 70kDa y 300kDa.

Tabla 2.

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D1	D2	D3
Conjugado de polisacárido proteína inmunogénico	Composición inmunogénica que comprende	Composición vacunal de	conjugados de
Polisacárido capsular de Staphylococcus aureus	polisacárido u oligosacárido capsular de S. aureus (Resumen)	S. aureus serotip 5 u 8	poli N-acetilados de glucosamina (PNAG)m
Conjugado con proteína de portador	Proteína portadora toxoide de difteria CRM197. (Reivindicación 16, Pág. 86)	Conjugado con proteína portadora	con proteínas portadoras como CRM197 (Resumen y Reivindicación 22 y 52, Págs. 88 y 90)
El polisacárido tiene un peso molecular de entre 20kDa y 1000kDa o entre 70kDa y 300kDa.	Los PNAG varían en su peso molecular entre 75 y 400kDa (Pág. 5)	El peso molecular de los polisacáridos capsulares 5 y 8 es de tamaño comparable con el de polisacáridos de una serie de bacterias patogénicas (Pág. 882)	Los PNAG varían en su peso molecular entre 75 y 400kDa (Pág. 5)

2 http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=WO&NR=2007113223A2&KC=A2&FT=D&ND=3&date=20071011&DB=EPODOC&locale=en_EP

Los elementos esenciales de los conjugados definidos en la reivindicación 1 se encuentran previstos por las enseñanzas de cualquiera de los documentos D1, D2 o bien D3, por lo que la materia reivindicada carece de novedad.

Nivel Inventivo (Art 18 D 486)

La reivindicación 8 consiste en un conjugado inmunogénico, en el que al menos un enlace covalente entre CRM 197 y el polisacárido libre tiene lugar al menos en cada de 5 a 10 unidades de repetición de sácarido del polisacárido o tiene lugar en cada 5 unidades de repetición de sacárido del polisacárido.

Tabla 3.

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D1	D2	D3
Conjugado de polisacárido proteína inmunogénico	Composición inmunogénica que comprende	Composición vacunal de	conjugados de
Polisacárido capsular de Staphylococcus aureus	polisacárido u oligosacárido capsular de S. aureus (Resumen)	S. aureus serotipo 5 u 8	poli N-acetilados de glucosamina (PNAG)m
Conjugado con proteína de portador	Proteína portadora toxoide de difteria CRM197. (Reivindicación 16, Pág. 86)	Conjugado con proteína portadora de tipo toxoide tetánico	con proteínas portadoras como CRM197 (Resumen y Reivindicación 22 y 52, Págs. 88 y 90)
El polisacárido tiene un peso molecular de entre 20kDa y 1000kDa o entre 70kDa y 300kDa.	Los PNAG varían en su peso molecular entre 75 y 400kDa (Pág. 5)	El peso molecular de los polisacáridos capsulares 5 y 8 es de tamaño comparable con el de polisacáridos de una serie de bacterias patogénicas (Pág. 882)	Los PNAG varían en su peso molecular entre 75 y 400kDa (Pág. 5)
Enlace covalente entre CRM197 y el polisacárido libre tiene lugar en cada 5 a 10 unidades de repetición del sacárido	Los conjugados se obtienen con toxoide de difteria CRM 197 (Pág. 9)	No menciona	Los conjugados de polisacárido serotipo 5 u 8 de S. aureus con CRM197. (Pág. 13, Líneas 10 a 12)

Nivel Inventivo frente a D1 y D2

El documento D2 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 8 porque divulga una vacuna que incluye un polisacárido de S. aureus serotipo 5 u 8 conjugado con una proteína portadora (Resumen).de toxoide tetánico (TT) para la que los estudios in vivo han demostrado seguridad, inmunogenicidad, eficacia y reducción de las bacteremias causadas por S. aureus (Pág. 886, Conclusión).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 8 y las enseñanzas del documento D2 consiste en la selección de la proteína portadora y en las unidades de repetición del enlace covalente entre CRM197 y el polisacárido capsular.

El efecto técnico que se origina al introducir un número determinado de unidades de repetición del enlace covalente en el inmunoconjugado consiste en incrementar la inmunogenicidad.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver la invención consiste en: cómo diseñar inmunoconjugados de polisacárido capsular serotipo 5 u 8 de *S. aureus* que presente inmunogenicidad incrementada.

Sin embargo, el documento D1 divulga una composición inmunogénica que comprende polisacárido u oligosacárido capsular de *S. aureus* que tiene un porcentaje de 30 a 100% de O-acetilación. El documento también divulga las vacunas y los métodos de tratamiento (Resumen). Por otra parte, el documento D1 divulga una composición inmunogénica que incluye un portador seleccionado de toxoide de difteria CRM197 (Reivindicación 16, Pág. 86) y los procedimientos para preparar conjugados (Ejs. 5 y 6, Págs. 66 a 74) con EDAC y dPNAG con toxoide tetánico (TT). El documento divulga además que los PNAG presentan un peso molecular de 75 a 400kDa (Pág. 5).

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia contaba con la sugerencia o motivación razonable para diseñar inmunoconjugados de polisacárido capsular 5 u 8 con proteínas portadoras de toxoide de difteria CRM197 como lo divulga el documento D1, y de alcanzar resultados relevantes en la inmunogenicidad in vivo, de acuerdo con los resultados que reporta el documento D2, por lo cual, la reivindicación 8 se considera obvia.

Puesto que la reivindicación 9 no divulga elementos característicos adicionales, se considera que dicha reivindicación tampoco cumple con el requisito de nivel inventivo.

Nivel Inventivo frente a D2 y D3

El documento D2 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 8 porque divulga una vacuna que incluye un polisacárido de *S. aureus* serotipo 5 u 8 conjugado con una proteína portadora (Resumen). de toxoide tetánico (TT) para la que los estudios in vivo han demostrado seguridad, inmunogenicidad, eficacia y reducción de las bacteremias causadas por *S. aureus* (Pág. 886, Conclusión).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 8 y las enseñanzas del documento D2 consiste en la selección de la proteína portadora y en las unidades de repetición del enlace covalente entre CRM197 y el polisacárido capsular.

El efecto técnico que se origina al introducir un número determinado de unidades de repetición del enlace covalente en el inmunoconjugado consiste en incrementar la inmunogenicidad.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver la invención consiste en: cómo diseñar inmunoconjugados de polisacárido capsular serotipo 5 u 8 de *S. aureus* que presente inmunogenicidad incrementada.

Sin embargo, el documento D3 divulga conjugados de poli N-acetilados de glucosamina (PNAG)m, que son polisacáridos intercelulares tipo adhesinas que presentan grupos N-acetilo y que están presentes en *S. aureus*, con proteínas portadoras como CRM197 (Resumen y Reivindicación 22 y 52, Págs. 88 y 90). El documento divulga de forma específica la preparación de conjugados de polisacárido capsular tipo 8-TT de *S. aureus* usando EDAC con toxoide tetánico (Ej. 5, Pág. 66). El ejemplo 6 divulga el método de preparación de conjugados de polisacárido capsular de *S. aureus* tipo 8 O-acetilado con toxoide tetánico (Págs. 69 y 70).

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia contaba con la sugerencia o motivación razonable para diseñar inmunoconjugados de polisacárido capsular 5 u 8 con proteínas portadoras de toxoide de difteria CRM197 como lo divulga el documento D3, y de alcanzar resultados relevantes en la inmunogenicidad in vivo, de acuerdo con los resultados que reporta el documento D2, por lo cual, la reivindicación 8 se considera obvia.

Puesto que las reivindicación 9 no divulga elementos característicos adicionales, se considera que dicha reivindicación tampoco cumple con el requisito de nivel inventivo.

La reivindicación 11 consiste en una composición inmunogénica que comprende de un 30% o menos de un 20% de polisacárido libre de tipo 5 u 8 en comparación con la cantidad total de polisacárido de tipo 5 u 8.

Tabla 4.
Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D1	D2
Composición inmunogénica que comprende un	Composición inmunogénica que comprende	Composición vacunal de
Conjugado de polisacárido proteína inmunogénico de	Un inmunoconjugado de	Un inmunoconjugado de
Polisacárido capsular de <i>Staphylococcus aureus</i> serotipo 5 u 8 con un grado de O-acetilación	Polisacárido u oligosacárido capsular de <i>S. aureus</i> serotipo 5 u 8	Polisacárido capsular de <i>S. aureus</i> serotipo 5 u 8
Conjugado con proteína de portador de tipo CRM197	Proteína portadora toxoide de difteria CRM197. (Reivindicación 16, Pág. 86)	Conjugado con proteína portadora de tipo toxoide tetánico
El polisacárido tiene un peso molecular de entre 20kDa y 1000kDa o entre 70kDa y 300kDa.	Los PNAG varían en su peso molecular entre 75 y 400kDa (Pág. 5)	El peso molecular de los polisacáridos capsulares 5 y 8 es de tamaño comparable con el de polisacáridos de una serie de bacterias patogénicas (Pág. 882)
Enlace covalente entre CRM197 y el polisacárido libre tiene lugar en cada 5 a 10 unidades de repetición del sacárido	Los conjugados se obtienen con toxoide de difteria CRM 197 (Pág. 9)	No menciona

Características esenciales	D1	D2
comprende de un 30% o menos de un 20% de polisacárido libre de tipo 5 u 8 en comparación con la cantidad total de polisacárido de tipo 5 u 8		

Nivel Inventivo frente a D1 y D2

El documento D2 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 11 porque divulga una vacuna que incluye un polisacárido de S. aureus serotipo 5 u 8 conjugado con una proteína portadora (Resumen) de toxoide tetánico (TT), para la que los estudios in vivo han demostrado seguridad, inmunogenicidad, eficacia y reducción de las bacteremias causadas por S. aureus (Pág. 886, Conclusión).

Las diferencias entre la invención definida en la reivindicación 11 y las enseñanzas del documento D2 consisten en la selección de la proteína portadora, en las unidades de repetición del enlace covalente entre CRM197 y el polisacárido capsular y en la cantidad de polisacárido libre dentro de la composición.

El efecto técnico que se origina al introducir un número determinado de unidades de repetición del enlace covalente entre la proteína portadora CRM197 y el polisacárido capsular O-acetilado de S. aureus serotipo 5 u 8 consiste en incrementar la inmunogenicidad del polisacárido capsular.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver la invención consiste en: cómo diseñar inmunoconjugados de polisacárido capsular serotipo 5 u 8 de S. aureus que presente inmunogenicidad incrementada.

Sin embargo, el documento D1 divulga una composición inmunogénica de tipo liposomal (Pág. 75) que comprende polisacárido u oligosacárido capsular de S. aureus que tiene un porcentaje de 30 a 100% de O-acetilación (reivindicación 2, Pág. 83) y que incluye un portador seleccionado de toxoide de difteria CRM197 (Reivindicación 16, Pág. 86). El documento divulga además que los PNAG presentan un peso molecular de 75 a 400kDa (Pág. 5).

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia contaba con la sugerencia o motivación razonable para diseñar composiciones que comprendan inmunoconjugados de polisacárido capsular 5 u 8 con proteínas portadoras de toxoide de difteria CRM197 y de incluir estructuras enlazantes para formar puentes de tipo covalente entre la proteína portadora y el polisacárido capsular como lo divulga el documento D1, y de alcanzar resultados relevantes en la inmunogenicidad in vivo, de acuerdo con los resultados que reporta el documento D2, por lo cual, la reivindicación 11 se considera obvia.

Nivel Inventivo (Art 18 D 486)

La reivindicación 13 consiste en un proceso de producción de un conjugado inmunogénico que comprende las etapas de: a) hacer reaccionar el polisacárido

capsular de *S. aureus* aislado con carbonil-ditriazol (CDT) en un disolvente orgánico para producir un polisacárido activado; b) hacer que reaccione el polisacárido activado con una proteína de portador en un disolvente orgánico para producir un conjugado de polisacárido proteína de portador, y c) aislar el conjugado de polisacárido capsular-proteína de portador.

Tabla 5.

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D1	D3
Un procedimiento de producción de un conjugado inmunogénico que comprende las etapas de	Un procedimiento para preparar un conjugado de polisacárido capsular serotipo 5 u 8 o un oligosacárido de <i>S. aureus</i> que comprende las etapas de (reivindicación 22, Pág. 87)	Un proceso para producir un conjugado de polisacárido <i>S. aureus</i> serotipo 5 u 8 que comprende: (reivindicación 28, Pág. 88)
a)hacer que reaccione un polisacárido capsular de <i>S. aureus</i> aislado con carbonil-ditriazol (CDT) en un disolvente orgánico para producir un polisacárido activado	a) disolver polisacárido u oligosacárido serotipo 5 u 8 en agua o solución salina	a) Activar el polisacárido de <i>S. aureus</i> serotipo 5 u 8 con un reactivo de cianilación
b)hacer que reaccione el polisacárido activado con una proteína de portador en un disolvente orgánico para producir un conjugado de polisacárido-proteína de portador; y	b) adicionar un agente de cianilación como CDAP para producir un polisacárido u oligosacárido activado y adicionar una proteína portadora para que los grupos amino reaccionen con polisacárido activado para formar enlaces isoúrea de tipo covalente	b) formar un enlace covalente entre el polisacárido activado de <i>S. aureus</i> serotipo 5 u 8 con una proteína portadora
c)aislar el conjugado de polisacárido capsular-proteína de portador	No menciona	El polisacárido u oligosacárido es tamizado por microfluidización, ultrasonido o tratamiento químico. (Reivindicación 31, Pág. 88)

Nivel Inventivo frente a D1 y D3

El documento D1 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 13 porque divulga un proceso para producir inmunoconjugados de polisacárido capsular de *S. aureus* serotipo 5 u 8 que comprende las etapas de disolver el polisacárido en agua o solución salina y adicionar un agente de cianilación como CDAP para activar el polisacárido y adicionar la proteína portadora para que los grupos amino reaccionen con el fin de formar enlaces urea (Reivindicación 22, Pág. 87).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 13 y las enseñanzas del documento D1 consiste en la etapa de aislamiento del conjugado mediante técnicas como dilución, diafiltración o filtración esteril.

El efecto técnico que se origina al introducir la etapa de aislamiento consiste en producir inmunoconjugados con mayor pureza ([Párr. 0287], Pág. 463 de la descripción).

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver la invención consiste en: cómo diseñar un procedimiento para producir inmunoconjugados de *S. aureus* serotipo 5 u 8 con mayor pureza.

Sin embargo, el documento D3 divulga un proceso para producir un conjugado de polisacárido de capsular de *S. aureus* serotipo 5 u 8 con una proteína portadora que consiste en las etapas de activar el polisacárido, promover la formación de una enlace covalente entre el polisacárido activado y la proteína portadora, formar el enlace covalente y tamizar el polisacárido obtenido por técnicas como microfluidización o ultrasonido o bien tratamiento químico (Pág. 88, reivindicaciones 28 a 31). En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia contaba con la sugerencia o motivación razonable para diseñar un proceso para la fabricación de inmunoconjugados como lo divulga el documento D1, y de introducir la etapa de purificación como lo divulga el documento D3 para producir conjugados de polisacárido capsular de *S. aureus*, por lo cual, la reivindicación 13 se considera obvia.

Puesto que las reivindicaciones 14 a 33 no divulgan elementos característicos adicionales, se considera que dichas reivindicaciones tampoco cumplen con el requisito de nivel inventivo.

9. Conclusión

Los requisitos de patentabilidad de la presente solicitud están afectados así:

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	WO2007113222	1 a 33	Novedad/Nivel Inventivo
D2	Fattom, Ali I.	1 a 33	Novedad/Nivel Inventivo
D3	WO2007113223	1 a 33	Novedad/Nivel Inventivo

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir del día siguiente de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Se invita al solicitante se sirva indicar, si así lo considera, su renuncia al término faltante de sesenta (60) días para dar respuesta a este requerimiento y presentarla por escrito.

Finalmente, se le recuerda al solicitante que si como respuesta a este requerimiento llegara a modificar el capítulo reivindicatorio y éste contenga más de diez (10) reivindicaciones, no pagará la tasa de modificación voluntaria pero sí la correspondiente al pago por reivindicación adicional.

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



JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 2014-03-11

Elaboró: John Fredy Hernandez Montaño
Revisó: Gloria Jacqueline Alfonso Roza
Revisó: Jose Luis Salazar Lopez

Development of StaphVAX™, a polysaccharide conjugate vaccine against *S. aureus* infection: from the lab bench to phase III clinical trials

Ali I. Fattom*, Gary Horwith, Steve Fuller, Myra Propst, Robert Naso

NABI Biopharmaceuticals, 12280 Wilkins Avenue, Rockville, MD 20852, USA

Abstract

Staphylococcus aureus is the most common nosocomial pathogen and is responsible for approximately one-third of hospital-acquired bacteremias. The emergence of strains with multidrug resistance, including resistance to vancomycin, the antibiotic of last resort, presents the medical community with a major public health problem. Alternative therapies, including immunotherapy, have been in development for several decades. The discovery of *S. aureus* capsular polysaccharides from clinical isolates, and their importance to pathogenicity via antiphagocytic activity, opened a new window of opportunity for development of vaccines and immunotherapy against this pathogen. A conjugate vaccine, StaphVAX™ that includes the two most prevalent capsular polysaccharides, types 5 and 8, coupled to a carrier protein efficient in promoting a Th2 response, was developed. In a recent phase III clinical study in hemodialysis patients, StaphVAX™ was shown to prevent *S. aureus* bacteremia for up to 10 months following a single immunization. The history, epidemiology, serology, and development of StaphVAX™, including preclinical and clinical studies demonstrating efficacy are described in this review.

© 2003 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Staphylococcus; Polysaccharide; Conjugate vaccine

1. Introduction

Staphylococcus aureus is the number one cause of infection in hospitalized patients, accounting for 20–25% of all nosocomial infections [1]. Contrary to the general belief, bacteremia is the most prevalent type of *S. aureus* infection in hospitalized patients, followed by lower respiratory tract infections and skin/soft tissue infections. In a recent and comprehensive survey that included clinical sites in the USA, Canada, Europe, it was found that *S. aureus* accounted for 22% of all blood infections (8929 of 40,497 infections), 23.2% of all lower respiratory tract (3371/14,552 infections) and 39.2% (2928/7474 infections) of all skin and soft tissue infections [2,3].

The ability of *S. aureus* to acquire antibiotic resistance and to adapt to new antibiotics is well established [4]. It is well recognized that the extensive use of antibiotics has resulted in increased resistance among *S. aureus* clinical isolates. In some areas, more than 95% of *S. aureus* isolates are now resistant to penicillin or ampicillin and more than 50% have developed resistance to methicillin [5–7]. Methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) infections are observed primarily in hospital settings but there have been alarming reports recently of community acquired MRSA

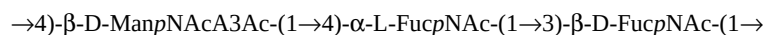
infections [8]. There are numerous examples demonstrating that vancomycin, presently the antibiotic of last resort against multidrug resistant *S. aureus* infections has been unable to clear *S. aureus* infections [9–11]. The ability of *S. aureus* to become vancomycin resistant was long believed to be limited only to laboratory setting [12]. However, the first clinical isolate of *S. aureus* with intermediate sensitivity to vancomycin (8–16 µg/ml) was identified in Japan [13,14]. Soon after this report, more isolates with intermediate resistance to vancomycin (VISA) were reported in the USA and elsewhere [15]. VISA strains were found to adapt and develop intermediate resistance by thickening of their cell walls [4]. More recently the first truly vancomycin resistant *S. aureus* (VRSA) was isolated and reported [16]. The newly isolated strain was found to have acquired vancomycin resistance by acquiring the van A gene identical to that found in vancomycin resistant enterococci [4].

2. Rationale, identification and development of vaccine candidates

With the advent of antibiotics, development of immunological approaches to management of staphylococcal infections has languished. Despite the large body of work in support of such approaches, the prospect of an immune-based solution to staphylococcal infections has been clouded

* Corresponding author. Tel.: +1-301-255-6970; fax: +1-301-770-2014.
E-mail address: afattom@nabi.com (A.I. Fattom).

Type 5:



Type 8:

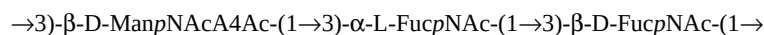


Fig. 1. The structures of *S. aureus* types 5 and 8 CP.

with uncertainty [17]. Wright and Douglas [18] noted as early as 1904 that phagocytosis is a major line of defense against *S. aureus* infections. Another significant clinical finding was reported by Quie, who discovered that immune compromised children with “chronic granulomatous disease” had frequent *S. aureus* infections [19] and that these occurrences were directly related to the dysfunction of the phagocytic cells. In spite of these leads, attempts to identify and isolate *S. aureus* antigens that stimulate opsonic antibodies against clinically significant “conventional” isolates were unsuccessful. Eventually, most investigators abandoned the search for immunological strategies to protect against *S. aureus* infection. As Dr. David Rogers, a prominent investigator in the field stated at the New York Academy of Science “the staphylococci: ecologic perspective” meeting in 1965, protective immunity and human antibody response to staphylococci “. . . have gone about as far as they kin go” [20,21].

In spite of its ability to produce a large variety of toxins and extracellular products [17], *S. aureus* cannot be generally equated with other organisms, such as *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, or *Bordetella pertusis*, which produce human illness primarily through elaboration

of extracellular products and toxins. The hallmarks of *S. aureus* infection are dissemination of *S. aureus* through the blood and multiplication of the organism at the nidus of infection. *S. aureus* is part of the normal human flora and exists in the nasopharyngeal cavity of ~25% of healthy adults [22]. Healthy people are not at risk for *S. aureus* infections and in fact, can readily clear infections by this organism. Once hospitalized, however, *S. aureus* becomes the most common infectious agents in the hospital setting [3]. Systemic *S. aureus* infections such as endocarditis, osteomyelitis, meningitis, etc. often result from hematogenous seeding from bacteremia due to the ability of *S. aureus* to evade immunological clearance mechanisms, especially opsonophagocytosis. Thus, staphylococcal pathobiology appears to be more like that of the pneumococci and meningococci rather than diphtheria, tetanus, or pertussis. For this reason, eliminating the organism from the host is of primary concern in preventing and treating staphylococcal infections.

In 1983 the field was advanced significantly when typing sera against *S. aureus* clinical isolates were developed [23]. It was quickly shown that *S. aureus* clinical isolates possess capsular polysaccharides (CP) that contribute to the ability of the bacteria to evade opsonophagocytosis. Subsequently,

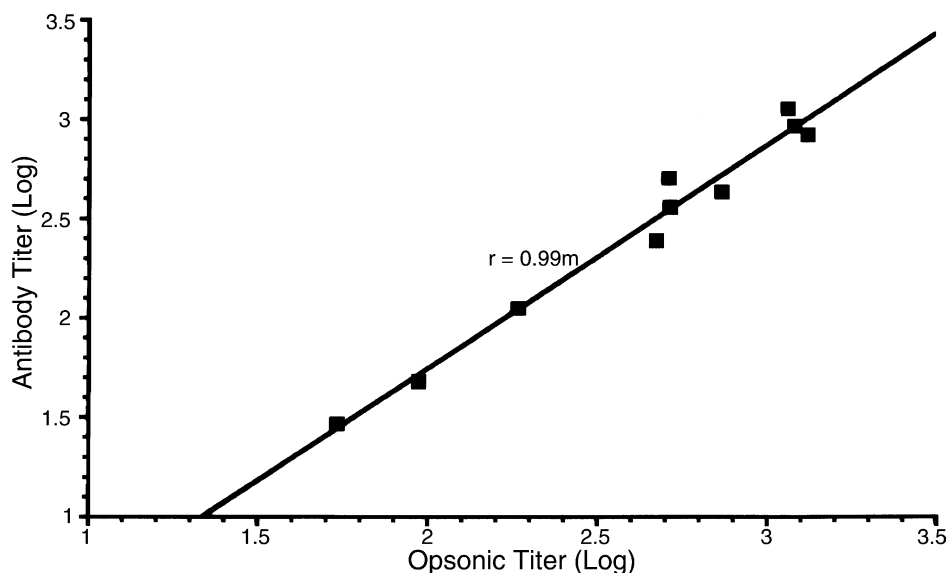


Fig. 2. Opsonophagocytosis of type 5 *S. aureus* by CP 5-rEPA conjugate induced antibodies in mice; correlation with ELISA antibodies. Opsonophagocytosis assays were performed as described by Karakawa et al. [24] except an HL60 cell line was used instead of freshly isolated human PMNs. The dilution that produced 50% kill was determined and the opsonophagocytic titer was determined as $1/\text{dilution}_{50\%}$ after subtracting the background kill determined by the addition of non-immune sera.

CP-specific antibodies were shown to mediate type-specific opsonophagocytosis and bacterial killing by polymorphonuclear cells (PMNs) [24]. Of the 13 known capsular types, two, types 5 and 8, were shown to comprise the majority of the clinical isolates [25,26]. Recent studies using isolates from different countries showed that 93% *S. aureus* isolates were of either type 5 or 8 (33 and 60%, respectively) [27,28]. These two capsular types also comprise >80% of *S. aureus* isolated from sheep, goats, cows with mastitis, and chickens with osteomyelitis [29,30]. Ultimately, *S. aureus* types 5 and 8 CP were isolated, purified, and their chemical structures elucidated [31,32] (Fig. 1).

Types 5 and 8 CP were found to be of small molecular size compared to CP of several other pathogenic bacteria. Furthermore, immunogenicity studies of the purified *S. aureus* CP showed them to be non-immunogenic in mice [33]. This property has been predictive for poor immunogenicity in infants and immunocompromised patients, two populations at high risk for *S. aureus* infections. Linking CP to carrier proteins to produce conjugate vaccines was shown to be effective in increasing the immunogenicity of bacterial polysaccharides and to confer T-cell dependent properties on their immune response [34,35]. Two conjugate vaccines, in which CP types 5 and 8 were linked to carrier proteins, have been prepared using *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A as a carrier protein, and were evaluated in animals. Data showed that these conjugates elicited high antibody titers in mice and in rabbits. Moreover, the conjugation conferred T-cell dependent properties on the CP as evidenced by a booster response following a second injection or as shown upon carrier priming [33].

Antibodies generated in vaccinated mice in response to monovalent conjugates (i.e. type 5 or 8 CP conjugate alone) or a bivalent vaccine containing both types 5 and 8 conjugates, exhibited both high affinity and type specificity. It was also found that antibodies generated by the vaccine(s) were functional in that there is a high degree of correlation between the amount of antibody by ELISA compared to opsonic activity. Fig. 2 shows in vitro opsonophagocytosis data generated by using murine sera from vaccinated mice.

3. Efficacy in animal models

Active immunization with StaphVAXTM was evaluated in a lethal mouse challenge model and was shown to protect mice from *S. aureus* challenge. It was also observed that there was a correlation between antibody titers and protection in the surviving mice [36]. To further evaluate the mechanism of protection demonstrated by active immunization, immunoglobulin G (IgG) was purified from plasma obtained from human volunteers who received a dose of the bivalent types 5 and 8 conjugate vaccine, designated as StaphVAXTM. The IgG, called AltastaphTM, was used to passively immunize animals, which were subsequently challenged with *S. aureus* lethal challenge [36]. The geometric

mean CP-5-specific antibody level in animals administered AltastaphTM was 111 µg/ml on the day of challenge with a half-life of 6 days. All animals that received AltastaphTM were protected against the challenge. Moreover, compared to animals administered non-specific IgG, animals passively immunized with AltastaphTM and challenged with a sub-lethal dose of *S. aureus* showed a faster clearance of the bacteremia. Examination of the passively immunized animals revealed that while kidneys and livers from immunized animals were free of infection, *S. aureus* abscesses developed in kidneys and livers of animals receiving control IgG [36]. The efficacy of the StaphVAXTM-specific antibodies was also shown in a rat endocarditis challenge model [37]. These data confirmed that protection against *S. aureus* infection is an antibody mediated mechanism and that the CP-specific antibodies could serve as a surrogate marker for in vivo protection. Moreover, these data may suggest also that in vitro opsonophagocytosis is a reasonable predictor for in vivo protection.

4. Immunogenicity of StaphVAXTM in humans

The type 8 CP and type 5 CP conjugate vaccines were initially evaluated in healthy adult human volunteers [38]. A total of 76 vaccinees received two injections of either type 5 or 8 conjugates in saline at 25 µg CP/dose. The vaccines were well tolerated. No significant systemic or serious local reactions were reported. Minor tenderness and erythema was observed in few volunteers, however, these reactions were transient and generally disappeared within 48 h.

An interesting observation from this study was that nearly all individuals, presumably due to repeated exposure to *S. aureus* not leading to clinical disease, have low levels of pre-existing antibody to *S. aureus* CP, and are therefore immunologically primed to the CP. In these early studies, background low levels of antibodies (approximately 10–15 µg/ml) to each of the CP were measured. Following a single dose of conjugate vaccines, there was a 10–20-fold increase in CP-specific antibody levels. Both IgG and IgM classes were induced after the first injection. A second injection of conjugate vaccine 6 weeks later did not stimulate a further increase in antibody levels, indicating that the first dose resulted in a near maximum booster response in these subjects. Sera were obtained from several subjects available for blood drawing at 47 months after type 5 vaccination and 33 months after type 8 vaccination. The antibody levels were 42–57% of the levels measured 6 months after vaccination. Antibody levels to type 8 CP were approximately 73% of the values measured at 6 months after vaccination (Table 1). Evaluation of the different subclasses at the two time points revealed a similar decline in titer in all four IgG subclasses (Table 2). These data show that CP conjugate vaccines elicit a long-term immune response with a slow decline over time and that there is no selective decline in titers among the different IgG subclasses.

Table 1

Longevity of *S. aureus* type 5 CP and type 8 CP immune response in healthy adult volunteers following administration of type 5 CP or type 8 CP conjugate vaccines

Vaccine (lot #)	N ^a	Antibody concentration				Percentage (Ab) ^b
		Preimmune	6 weeks	6 months	47 months	
Geometric mean IgG levels and range (μg/ml)						
<i>S. aureus</i> T5-rEPA (lot #50179)	8/23	10 (7–13)	367 (246–479)	292 (255–289)	122 (68–128)	42
<i>S. aureus</i> T5-rEPA (lot #4907)	11/25	8 (6–13)	241 (177–350)	175 (51–115)	100 (73–141)	57
<i>S. aureus</i> T8-rEPA (lot #51008)	9/22	11 (9–25)	81 (60–116)	71 (51–115)	52 (41–68) ^c	73

^a Number of volunteers available for evaluation at 47 months/number of original participants.

^b Antibody levels remaining at 47 months compared to 6 months (%).

^c Type 8 levels were measured at 33 months post last immunization.

Table 2

Evaluation of IgG subclasses at 6 weeks and 33–47 months post-vaccination in adult volunteers receiving type 5 CP conjugate vaccine

CP	Lot #	Subclass	N	Antibody titers (GM-ug/ml)			Reduction (%)
				Preimmune	6 weeks	33–47 months	
T5	49704	IgG1	6	1.3	47.17 a	17.64 b	61
		IgG2	6	1.83	60.6 c	26.51 d	54
		IgG3	2	<0.1	1.47	0.69	53
		IgG4	0	<0.1	<0.1	<0.1	na
T5	50179	IgG1	6	0.22	11.27 e	4.57 f	53
		IgG2	6	2.27	173.83 g	43.2 h	67
		IgG3	1	1.4	100	78	22
		IgG4	2	0.89	8.39	6.32	22

Unpaired *t*-test: a vs. b, *P* = 0.008; e vs. f, *P* = 0.041. Mann–Whitney rank sum test: c vs. d, *P* = 0.004; g vs. h, *P* = 0.047.

The functionality of *S. aureus* antibodies in sera from healthy volunteers participating in subsequent StaphVAXTM clinical trials were tested in an in vitro opsonophagocytic assay and compared to sera obtained prior to vaccination. Post-vaccination sera demonstrated significantly higher levels of type-specific opsonophagocytic activity. In addition, there was an excellent correlation between type-specific antibody levels measured by ELISA and opsonophagocytic (Fig. 3).

5. Target populations

Hospitalized patients in general and especially those undergoing invasive medical procedures including surgery are at risk for *S. aureus* infections. Other populations such as end stage renal disease patients (ESRD) on hemodialysis and other patients with chronic diseases such as residents of nursing homes are also at relatively high risk for *S. aureus* infections [39]. While surgery patients are at high risk for *S.*

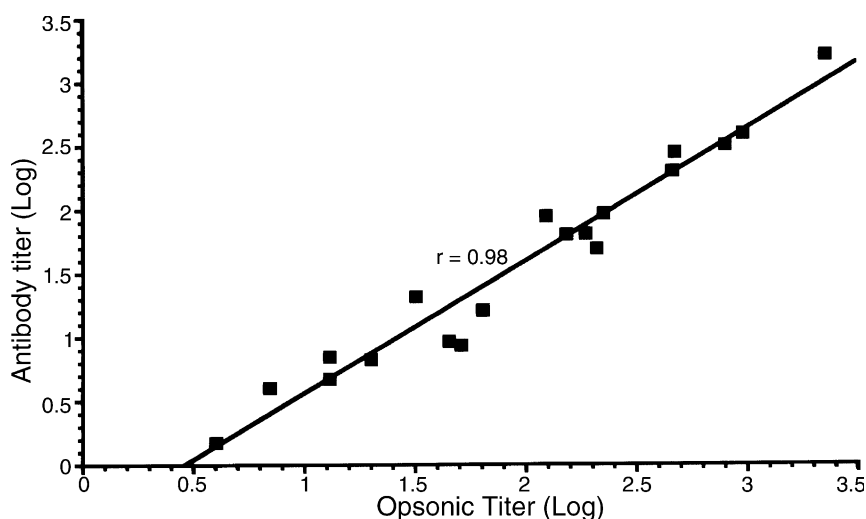


Fig. 3. Opsonophagocytosis of *S. aureus* type 5 by human sera from healthy volunteers immunized with StaphVAXTM; correlation with ELISA antibodies. Opsonophagocytosis assays were performed as described by Karakawa et al. [24] except an HL60 cell line was used instead of freshly isolated human PMNs. Individual human sera were added to the reaction mixture and the 50% kill was determined. Opsonophagocytic titers was determined as 1/dilution_{50%}.

aureus infections for a limited short period of time, patients with chronic disease, such as ESRD patients, are at continuous, long-term risk because of their underlying disease and routine medical procedures used to treat them (e.g. dialysis procedures). ESRD patients were chosen for the clinical development of StaphVAXTM [39] due to their relatively high incidence of *S. aureus* disease and their good response to StaphVAXTM.

5.1. Other early clinical trials

Initial clinical studies of types 5 and 8 CP conjugates in healthy volunteers showed the vaccine components to be safe and immunogenic [38]. Subsequent trials evaluated a *S. aureus* monovalent type 5-rEPA conjugate in hemodialysis patients with ESRD [40]. No serious local or systemic reactions or liver enzyme abnormalities were observed following the first or the second immunization. Although an 18-fold increase in IgG antibodies to type 5 CP was observed, the geometric mean IgG level was 56% of that achieved in normal healthy volunteers immunized with same lot of vaccine. Furthermore, although all subjects responded with higher type 5 CP antibodies, only 13/16 responded with greater than five-fold increase in titer, compared to 23/23 responders in normal healthy volunteers. Moreover, a faster decline in antibody level was observed in ESRD patients compared to normal healthy adults receiving the same vaccine six months after vaccination, 39 and 14%, respectively [40]. These data indicated that while the *S. aureus* type 5 CP conjugate vaccine is immunogenic and can be used for active immunization in some populations, other patient populations may require either higher doses of the vaccine or the use of the vaccine with an adjuvant.

The type 5 CP and type 8 CP conjugates were combined into one injection (StaphVAXTM) and evaluated for immunogenicity in healthy volunteers and in ESRD patients. Results showed that the combining of the two conjugates did not affect the immunogenicity of each individual CP (unpublished data). Furthermore, it was observed that CP-specific antibodies appear to peak in concentration within 10–14 days after immunization confirming that the immune systems of most people are already primed to *S. aureus* CP. These results suggest that patients at short-term risk of *S. aureus*

infection (e.g. elective surgery patients) might also benefit from vaccination.

StaphVAXTM was also evaluated in ESRD patients at higher doses than previously used in healthy volunteers. The antibody levels achieved were shown to be dose dependent however antibody levels were generally lower in ESRD patients than in healthy volunteers and they declined more rapidly (Table 3). Moreover, the percent of ESRD patients responding increased to nearly 90% at higher vaccine doses, a significant improvement over that achieved with lower doses in this population.

6. Phase III efficacy trial

StaphVAXTM was formulated to contain 100 µg each CP conjugated to rEPA for evaluation of its efficacy against *S. aureus* bacteremia in a phase III, double blinded, randomized, stratified, and placebo controlled clinical trial. Eighteen hundred ESRD patients on hemodialysis were enrolled to receive either one injection of StaphVAXTM or phosphate buffered saline (PBS). Patients were stratified by their nasopharyngeal carriage of *S. aureus* and dialysis access. The primary endpoint of the trial was prospectively defined as significant reduction in *S. aureus* bacteremia for 1 year. The safety and the immunogenicity of StaphVAXTM were secondary endpoints in this study. The vaccine was shown to be safe and elicited high levels of antibodies to both types 5 and 8 CP components with 88% responding to type 5 and 84% responding to type 8. At peak CP-specific geometric mean antibody titers were approximately 230 and 206 µg/ml for types 5 and 8, respectively. At 54 weeks post-vaccination, the antibody levels declined to approximately 74 µg/ml for type 5 and 65.5 µg/ml for type 8. The efficacy of StaphVAXTM at 1 year, the primary end point for this study, was 26% (reduction in bacteremia) compared to placebo and was not statistically significant ($P = 0.228$). In a post-hoc analysis evaluating the performance of the vaccine through various earlier time points, however, StaphVAXTM was shown to reduce *S. aureus* bacteremia by 64% through 32 weeks follow-up ($P = 0.02$) and by 57% through 40 weeks ($P = 0.02$). When the antibody levels were matched with the efficacy, it appeared that protection fell off when geometric mean antibody levels in the population fell below approximately 80 µg/ml [41].

Table 3
StaphVAXTM dose evaluation in hemodialysis patients^a

Dose (µg) CP T5/T8	N	Type 5 IgG (µg/ml)			Type 8 IgG (µg/ml)		
		Day 0	Day 42	Percentage ^b	Day 0	Day 42	Percentage
25/25	15	6	62	80	10	31	47
75/55	16	4	82	75	3	50	75
118/83	17	4	172	88	6	143	88

^a Results are expressed as µg/ml IgG-specific antibodies.

^b Percent responders (greater than four-fold increase and >25 µg/ml IgG).

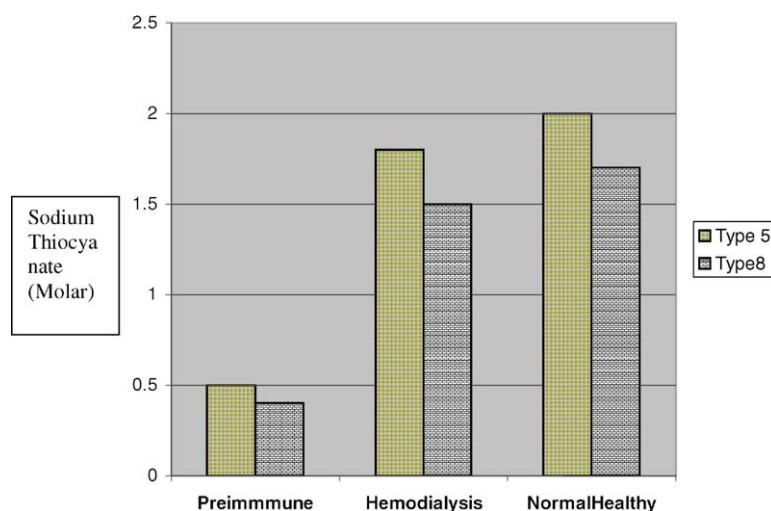


Fig. 4. Comparison of the affinity of StaphVAXTM induced antibodies from healthy volunteers and hemodialysis patients. Human sera were diluted to yield an OD of 2.0 in ELISA plates coated with the appropriate polysaccharide. The amount of thiocyanate added to result in 50% reduction in OD was determined. Results are expressed as geometric mean sodium thiocyanate concentrations.

Opsonophagocytosis is the principal mechanism for clearance of infections caused by Gram positive bacteria including *S. aureus*. Circulating antibodies to CP recognize invading *S. aureus* cells and opsonize them. Complement is deposited on opsonized cells and binds to polymorphonuclear cells (PMNs) through complement receptors that induces the phagocytosis of the opsonized cells by PMNs. Examining the calculated protective antibody levels for *S. aureus* from our study reveals that they are far higher than those observed with other bacterial infections such as pneumococcal and meningococcal infections. The requirement for high antibody levels to protect against *S. aureus* bacteremia may be related to health condition of ESRD patients. These patients often suffer from uncontrolled diabetes, hyper-uremia, impaired complement, and low complement receptor density on their neutrophils, in addition to other defects or impairments in the performance of their lymphocytes. These conditions may cause an inefficiency and impairment of the opsonophagocytosis mechanism [42–44]. Further, an optimum performance of these immune functions for protection against invading bacteria would require a high quality and functionality of the elicited antibodies. The affinity of antibodies generated by StaphVAXTM in hemodialysis patients was evaluated and compared to that exhibited by antibodies generated in immunocompetent healthy volunteers (Fig. 4). The amount of thiocyanate needed to prevent CP-specific antibodies from binding to immobilized antigen is proportional to the affinity of the antibodies. Data presented above show that the affinity of anti-CP antibodies produced by StaphVAXTM in hemodialysis was equivalent to that of antibodies induced in healthy volunteers. Moreover, when tested in an in vitro opsonophagocytosis assays, the antibodies to types 5 and 8 CP generated in the ESRD patients performed equally well to the antibodies formed in healthy volunteers (Fattom et al., submitted for publication).

7. Extending the efficacy

Hemodialysis patients are at continuous and long-term risk patients for *S. aureus* infection and could benefit from the presence of protective levels of antibodies at all times. A periodic booster immunization may be needed to rebuild trough concentrations of antibodies and restore or prolong the efficacy of the vaccine beyond the 10 months of significant protection seen in the phase III trial. Previous experiences with conjugate vaccines in adults showed that a booster immunization at six weeks after the first immunization did not result in boosting the antibody levels [35,38,45]. To see the effects of booster immunization on specific antibody levels and vaccine safety when the booster is given longer periods of time after the initial vaccination, 79 ESRD patients, previously immunized with StaphVAXTM in the phase III trial, were recruited for a booster study. These subjects had received their initial vaccination with StaphVAXTM 2–3 years previous to the booster. Results from the booster study showed that the CP-specific antibodies levels increased to about 60% of the peak levels achieved with the first immunization resulting in >80% of the participants achieving or exceeding the calculated protective levels, i.e. ~80 µg/ml. In addition, the decline of specific antibody levels after the booster was slower than that observed after the initial immunization.

8. Planned confirmatory efficacy study

In a currently planned confirmatory phase III clinical trial of StaphVAXTM in ESRD patients on hemodialysis, a booster immunization will be administered at 8 months and its impact on the levels of CP-antibodies and on extension of efficacy will be evaluated.

9. Conclusion

StaphVAXTM, an experimental *S. aureus* polysaccharide conjugate vaccine, was shown to be safe, immunogenic, and efficacious, as determined by reduction in *S. aureus* bacteremia through up to 10 months post-immunization, in ESRD patients. Preliminary booster studies strongly suggest that ESRD patients can respond to booster immunizations with StaphVAXTM with increased levels of vaccine-specific antibodies. Studies are planned to further evaluate the value of booster doses to prolong efficacy in patients who may be at long-term risk for infection. Since StaphVAXTM induces high levels of CP-specific antibodies within 10–14 days post-immunization, the vaccine may also have potential in preventing *S. aureus* infections in individuals at short-term risk for infection. For patients such as surgery patients, one immunization with may be sufficient to achieve protective levels of antibody throughout the risk (e.g. hospitalization) period. Additional safety and immunogenicity clinical trials of StaphVAXTM in several patient populations at short-term risk of *S. aureus* infections are being planned.

Acknowledgements

We would like to thank Sofiane Ennifar and Lewis Pollack for their help in preparing this manuscript.

References

- [1] Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Kugler K. Bacterial pathogens isolated from patients with bloodstream infection: frequencies of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY antimicrobial surveillance program (United States and Canada, 1997). *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42(7):1762–70.
- [2] Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1999. *Clin Infect Dis* 2001;32(Suppl 2):S114–32.
- [3] Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN. Age-related trends in pathogen frequency and antimicrobial susceptibility of bloodstream isolates in North America. SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–2000. *Int J Antimicrob Agents* 2002;20(6):412–8.
- [4] Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* 2003;111(9):1265–73.
- [5] Brumfitt W, Hamilton-Miller J. The worldwide problem of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Drugs Exp Clin Res* 1990;16:205–14.
- [6] Boyce JM. Increasing prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. In: The United States. *Infect Control Hospital Epidemiol* 1990;116:39–42.
- [7] Begley S. Antibiotics the end of miracle drugs? *Newsweek* 1994; 46–51.
- [8] Naimi TS, LeDell KH, Boxrud DJ, Groom AV, Steward CD, Johnson SK, et al. Epidemiology and clonality of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Minnesota, 1996–1998. *Clin Infect Dis* 2001;33(7):990–6.
- [9] Moore MR, Perdreau-Remington F, Chambers HF. Vancomycin treatment failure associated with heterogeneous vancomycin—intermediate *Staphylococcus aureus* in a patient with endocarditis and in the rabbit model of endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(4):1262–6.
- [10] Grabs AJ, Lord RS. Treatment failure due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with reduced susceptibility to vancomycin. *Med J Aust* 2002;176(11):563.
- [11] Gopal V, Bisno AL, Silverblatt FJ. Failure of vancomycin treatment in *Staphylococcus aureus* endocarditis. In vivo and in vitro observations. *J Am Med Assoc* 1976;236(14):1604–6.
- [12] Noble WC, Virani Z, Cree RG. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 1992;72(2):195–8.
- [13] Hiramatsu K. The emergence of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Japan. *Am J Med* 1998;104(5A):7S–10S.
- [14] Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, et al. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet* 1997;350(9092):1670–3 [see comments].
- [15] CDC. Reduced susceptibility of *Staphylococcus aureus* to vancomycin—Japan, 1996. *MMWR* 1997;46(27):624–35.
- [16] CDC. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin—United States, 2002. *MMWR* 2002;51(26):565–7.
- [17] Foster TJ. Potential for vaccination against infections caused by *S. aureus*. *Vaccine* 1991;9:221–7.
- [18] Wright AE, Douglas SR. An experimental investigation of the role of fluids in connection with phagocytosis. *Proc R Soc London* 1904;73:128–42.
- [19] Quie PG. Bactericidal function of human polymorphonuclear leukocytes. *Pediatrics* 1972;50:264–70.
- [20] Rogers DE, Melly MA. Speculation on the immunology of staphylococcal infection. *Ann N Y Acad Sci* 1965;128:274–84.
- [21] Fattom AI, Naso R. Staphylococcal vaccines: a realistic dream. *Ann Med* 1996;28(1):43–6.
- [22] Essawi T, Na'was T, Hawwari A, Wadi S, Doudin A, Fattom AI. Molecular. *Trop Med Int Health* 1998;3(7):576–83.
- [23] Karakawa WW, Vann WF. Capsular polysaccharides of *Staphylococcus aureus*. In: Weinstein L, Fields BN, editors. *Semin Infect Dis* 1982;285–93.
- [24] Karakawa WW, Sutton A, Schneerson R, Karpas A, Vann WF. Capsular antibodies induce type-specific phagocytosis of capsulated *Staphylococcus aureus* by human polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun* 1988;56:1090–5.
- [25] Arbeit RD, Karakawa WW, Vann WF, Robbins JB. Predominance of two newly described capsular polysaccharide types among clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1984;2(2):85–91.
- [26] Sompolsinsky D, Samra D, Karakawa WW, Vann WF, Schneerson R, Malik Z. Encapsulation and capsular types in isolates of *Staphylococcus aureus* from different sources and relationship to phage types. *Infect Immun* 1985;22:828–34.
- [27] Fattom A, Naawas T, Hawwari A. *S. aureus* nasal carriage as a risk factor for pneumonia but not bacteremia in shock trauma patients. In: Proceedings of the 95th American Society of Microbiology; 1995.
- [28] Essawi T, Na'was T, Hawwari A, Wadi S, Doudin A, Fattom AI. Molecular, antibiogram and serological typing of *Staphylococcus aureus* isolates recovered from Al-Makased Hospital in East Jerusalem. *Trop Med Int Health* 1998;3(7):576–83.
- [29] Daum RS, Fattom A, Freese S, Karakawa W. Capsular polysaccharide serotypes of coagulase-positive staphylococci associated with tenosynovitis, osteomyelitis, and other invasive infections in chickens and turkeys: evidence for new capsular types. *Avian Dis* 1994; 38(4):762–71.
- [30] Poutrel B, Boutonnier A, Sutra L, Fournier JM. Prevalence of capsular polysaccharide types 5 and 8 among *Staphylococcus aureus* isolates from cow, goat, and ewe milk. *J Clin Microbiol* 1988;26(1):38–40.

- [31] Fournier JM, Hannon K, Moreau M, Karakawa WW, Vann WF. Isolation of type 5 capsular polysaccharide from *Staphylococcus aureus*. Ann Inst Pasteur Microbiol 1987;138(5):561–7.
- [32] Moreau M, Richards JC, Fournier JM, Byrd RA, Karakawa WW, Vann WF. Structure of the type 5 capsular polysaccharide of *Staphylococcus aureus*. Carbohydr Res 1990;201(2):285–97.
- [33] Fattom A, Schneerson R, Szu SC, Mestecky J, Schiffman G, Bryla D, et al. Synthesis and immunologic properties in mice of vaccines composed of *Staphylococcus aureus* types 5 and 8 capsular polysaccharides conjugated to *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A. Infect Immun 1990;58(7):2367–74.
- [34] Robbins JB, Schneerson R. Polysaccharide-protein conjugates. A new generation of vaccines. J Infect Dis 1990;161:821–32.
- [35] Chu C, Schneerson R, Robbins JB, Rastogi SC. Further studies on the immunogenicity of *Haemophilus influenzae* type b and pneumococcal type 6A polysaccharide-protein conjugates. Infect Immun 1983;40(1):245–56.
- [36] Fattom AI, Sarwar J, Ortiz A, Naso R. A *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharide (CP) vaccine and CP-specific antibodies protect mice against bacterial challenge. Infect Immun 1996;64(5):1659–65.
- [37] Lee JC, Park JS, Shepherd SE, Carey V, Fattom A. Protective efficacy of antibodies to the *Staphylococcus aureus* type 5 capsular polysaccharide in a modified model of endocarditis in rats. Infect Immun 1997;65(10):4146–51.
- [38] Fattom A, Schneerson R, Watson DC, Karakawa WW, Fitzgerald D, Pastan I. Laboratory and clinical evaluation of conjugate vaccines composed of *Staphylococcus aureus* types 5 and 8 capsular polysaccharides bound to *Pseudomonas aeruginosa* recombinant exoprotein A. Infect Immun 1993;61(3):1023–32.
- [39] Fattom AI, Naso R. *Staphylococcus aureus* vaccination for dialysis patients—an update. Adv Ren Replace Ther 1996;3(4):302–8.
- [40] Welch PG, Fattom A, Moore Jr J, Schneerson R, Shiloach J, Bryla DA, et al. Safety and immunogenicity of *Staphylococcus aureus* type 5 capsular polysaccharide-*Pseudomonas aeruginosa* recombinant exoprotein A conjugate vaccine in patients on hemodialysis. J Am Soc Nephrol 1996;7(2):247–53.
- [41] Shinefield H, Black S, Fattom A, Horwith G, Rasgon S, Ordonez J, et al. Use of a *Staphylococcus aureus* conjugate vaccine in patients receiving hemodialysis. N Engl J Med 2002;346(7):491–6.
- [42] Pirofski LA, Casadevall A. Use of licensed vaccines for active immunization of immunocompromised host. Clin Microbiol Rev 1998;11:1–26.
- [43] Haag-Weber M, Hable M, Schollmeyer P, Hort W, urth SL. Metabolic response of neutrophils to uremia nad dialysis. Kidney Int 1989;36(Suppl 27):S293–8.
- [44] Nolan C, Beaty H, Bagdade J. Impaired granulocyte bactericidal function in patients with poorly controlled diabetes. Diabetes 1978;127:889–94.
- [45] Schneerson R, Robbins JB, Parke JC, Bell C, Schlesselman JJ, Sutton A, et al. Quantitative and qualitative analysis of serum antibodies elicited in adults by *Haemophilus influenzae* type B and *Pneumococcus* type 6A capsular polysaccharide-tetanus toxoid conjugates. Infect Immun 1986;52:519–28.