

## TRIANA, URIBE & MICHELSEN

DOCTOR  
JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ  
JEFE DE LA DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES  
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
E. S.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-041846- -00008-0000

Fecha: 2013-11-25 16:14:26 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII  
Act. 329 CTOINFORMACION Folios: 64

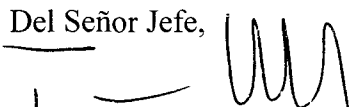
EXPEDIENTE No. : 12-041846  
SOLICITANTE : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
REFERENCIA : SOLICITUD DE REGISTRO DE LA PATENTE **ANTICUERPOS  
MONOCLANES PARA PROTEÍNA PBP2-a Y SECUENCIAS  
HOMÓLOGAS PARA EL TRATAMIENTO DE  
INFECCIONES E INMUNODIAGNÓSTICO EN BACTERIAS  
DEL FÍLUM FIRMICUTES**  
CODIGO : 444

### Memorial complemento

**JUAN CARLOS URIBE RESTREPO**, mayor de edad, domiciliado en la ciudad de Bogotá D.C, República de Colombia, abogado titulado e identificado como aparece al pie de mi firma, actuando en mi calidad de apoderado de la sociedad **FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ** con domicilio en Rio de Janeiro, Brasil, presento éste memorial de complemento, mediante el cual anexo lo siguiente:

1. Traducción al idioma Español de los anexos del reporte de examen preliminar internacional, llevado a cabo dentro de ésta invención.
2. Vale la pena aclarar que ésta traducción solo se anexa con el propósito de completar la información obrante dentro de la patente citada en la referencia. Por tanto, ésta entidad debe estudiar ésta invención, de acuerdo con la modificación del capítulo reivindicatorio presentada ante ésta entidad el 20 de mayo de 2013, en el que se pagó la tasa correspondiente.
3. En consecuencia de lo anterior, solicito a ésta entidad continuar con el trámite de rigor, y con ello se examine la invención de mí representada, de acuerdo con las reivindicaciones presentadas ante ésta entidad el 20 de mayo de 2013.

Del Señor Jefe,

  
JUAN CARLOS URIBE RESTREPO  
C.C. 79.159.313 de Usaquén  
T.P.A. 54493 del C.S. de la J.

4290210245559/MGR/COLO 0629 0301 52835

**BHERING, ALMEIDA & ASSOCIADOS**

***Propiedad Intelectual***

Calle Beneditinos, 16 – 11º piso

20081-050 - Rio de Janeiro, RJ

Brasil

Tel.: 55 21 2516 6698

Fax: 55 21 2516 1380

Email: [bhering-almeida@gbl.com.br](mailto:bhering-almeida@gbl.com.br)

**PARA:**

Instituto Nacional de Propiedad Industrial - INPI

IPEA/BR

Calle Mayrink Veiga nº 9, 18º piso

Código Postal: 20090-050, Centro - Rio de Janeiro, RJ

**REF.:**

Solicitud de Patente PCT/BR2010/000263

Fecha de solicitud: 10 de Agosto de 2010

Solicitante: Fundación Oswaldo Cruz, et al.

Referencia Agente: P1745

**RESPUESTA A LA OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD COMPETENTE PARA EL  
EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL**

La solicitante presenta a continuación sus aclaraciones acerca del dictamen de la Autoridad Competente para el Examen Preliminar Internacional.

Teniendo en cuenta el estado del arte citado, subrayamos que el contenido de tales documentos es diferente de la materia para la cual se requiere la protección, así que la materia técnica reivindicada en la presente solicitud no puede ser considerada obvia para un experto en el estado del arte.

Sin embargo, para corregir algunas deficiencias y objeciones contenidas en la Segunda Opinión Escrita, estamos presentando los siguientes documentos:

- ✓ copia revisada (marcada) de las reivindicaciones modificadas de 1 a 17;
- ✓ copia revisada (marcada) de las páginas 14, 49 y 50 del informe modificado;
- ✓ copia final de las reivindicaciones modificadas;
- ✓ copia final de las páginas 14, 49 y 50 del informe capítulo descriptivo modificado.

Las reivindicaciones modificadas y la descripción modificada son presentadas con el fin de sustituir aquellos existentes en la presente solicitud.

Las copias revisadas (marcadas) son incluidas para información de la División de Examen y muestran las modificaciones introducidas en la solicitud original de la siguiente manera:

- (i) resaltadas como **adición** - en negrita y subrayadas
- (ii) resaltadas como ~~supresiones~~— tachadas

### **ACLARACIONES SOBRE LAS MODIFICACIONES**

#### En relación al Cuadro VII

La página 14 de la descripción fue modificada a fin de incorporar el término "Ejemplo 1" inmediatamente después de la línea 24.

También en la página 14 del capítulo descriptivo fue insertada la expresión "secuencia completa de la PBP2a", en la línea 14 de la misma página.

#### En relación al Cuadro VIII

El examinador considera que los argumentos anteriormente suministrados por el solicitante no se consideran pertinentes. El examinador enfatiza que las reivindicaciones no definen con claridad la materia a ser protegida. En este sentido, presentamos un nuevo capítulo reivindicatorio a fin de definir mejor el objeto reivindicado.

En la reivindicación 1 fue insertado un término explicativo para la mención de las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas.

Las reivindicaciones 2 a 4 han sido modificadas con el objetivo de informar que las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas del anticuerpo son codificadas por secuencias de ADN.

Además, se han efectuado modificaciones en el capítulo reivindicatorio con el objetivo de definir mejor las relaciones de dependencia.

Las reivindicaciones 8 a 19 han sido sustituidas por las nuevas reivindicaciones de 5 a 12. Estas nuevas reivindicaciones traen mayor definición y claridad a la materia a ser protegida, además de que contempla nuevas relaciones de dependencia, caracterizando mejor el producto reclamado. Además, las modificaciones de las reivindicaciones proporcionan un mejor agrupamiento de las categorías de reivindicaciones.

Las reivindicaciones 13 y 14 han sido insertadas en el capítulo reivindicatorio con el fin de

caracterizar mejor el objeto de la invención. Estas reivindicaciones están soportadas en las nuevas páginas 49 del informe descriptivo.

Las reivindicaciones 5 a 7 han sido sustituidas por las nuevas reivindicaciones 15 a 17. Las nuevas reivindicaciones 15 a 17 contemplan modificaciones en la definición de su objeto, pues definen ese objeto a través de las reivindicaciones 1 a 14, y no por las reivindicaciones 1 o 2. Estas nuevas reivindicaciones incorporan además el término "sus fracciones funcionalmente equivalentes\*.

Si esta Autoridad responsable por el examen preliminar internacional entiende que las presentes modificaciones no atienden a las objeciones contenidas en la Segunda Opinión Escrita, la ahora interesada manifiesta su interés en obtener una oportunidad adicional para presentar modificaciones o argumentos.

Atentamente,

Katia F de Almeida

Bhering, Almeida & Associados

Anexos:

Páginas 14, 49A-49D, 50 de la descripción

Nuevas reivindicaciones

secuencia completa (excepto la región de fijación de membrana) del gen *mecA* y un fragmento interno del dominio transpeptidasa. Las inmunizaciones se realizaron con 4 dosis y los animales inmunizados y un grupo control no inmunizado fueron desafiados por una infección sistémica con MRSA y una determinación del número de bacterias presentes en los riñones de los animales en dos periodos distintivos. Los resultados obtenidos demostraron que la inmunización con el fragmento de transpeptidasa confieren una mayor reducción en el número de bacterias presentes en los riñones de animales de aquellas en los animales vacunados con el gen *mecA*.

Por lo tanto, vemos que los anticuerpos generados contra el fragmento transpeptidasa proporcionan una mejor protección en las condiciones usadas (vacuna de ADN en modelo murina) que uno por anticuerpos contra una secuencia completa de PBP2a. El fragmento de transpeptidasa incluye el núcleo activo de enzima STQK (SEQ ID NO.: 4).

En consecuencia, basándose en los resultados encontrados, los inventores dirigen la invención para producir anticuerpos monoclonales capaces de reconocer y unirse a la proteína PBP2a y otras proteínas presentando secuencias homólogas a la proteína PBP2a y mediante el uso de fragmento de transpeptidasa que incluye el núcleo activo de enzima.

Ahora se describirá la invención con referencia a ejemplos, que no deben ser considerados como limitación.

La invención se describirá ahora con referencia a los ejemplos, que no deben considerarse limitativos.

### **EJEMPLO 1**

#### **Materiales y métodos:**

##### **1. Bacterias**

Se utilizaron las siguientes cepas *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina: Ibérica-MRSA, COL-MRSA (cedida por Unité des Agents Antimicrobiens - Institut

segundo día; los demás permanecieron vivos hasta el final de la prueba. La tasa de supervivencia fue del 66.6%.

La presente invención suministra un anticuerpo como lo fue definido anteriormente, caracterizado porque el mismo es un anticuerpo del isotipo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE o IgM.

En una forma de realización, la presente invención suministra un fragmento de anticuerpo que comprende por lo menos una porción de un dominio variable de cadena pesada que contiene una o más CDRs de  $V_H$  de un anticuerpo de la presente invención y opcionalmente, también un dominio variable de la cadena ligera que comprenda una o más CDRs de  $V_L$  de un anticuerpo de la presente invención, en que el dominio variable de la cadena pesada y opcionalmente, el dominio variable de cadena ligera, opcionalmente es (son) fundido(s) a una porción adicional, tal como un dominio constante de inmunoglobulina. Las secuencias de dominio constante pueden ser adicionadas a la(s) secuencia(s) de la cadena pesada y/o cadena ligera para formar una especie con cadenas pesada y/o ligera de longitud parcial. Las regiones constantes o porciones de éstas, de cualquier isotipo de anticuerpo pueden ser usadas con este propósito, incluyendo las regiones constantes de IgG, IgM, IgA, IgD e IgE.

El término anticuerpo en la presente invención, a menos que sea establecido de otro modo o claramente contradicho por el contexto, también incluye fragmentos funcionalmente equivalentes de un anticuerpo, es decir, que retienen la capacidad para enlazarse específicamente a un antígeno. Se mostró que la función de enlace del antígeno de un anticuerpo puede ser realizada por los fragmentos de un anticuerpo. Los

ejemplos de fragmentos de enlace comprendidos dentro del término "anticuerpo" incluyen

(i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste de los dominios  $V_L$ ,  $C_L$ , y  $C_{H1}$ ; (ii) fragmentos  $F(ab)_2$ ; y  $F(ab')_2$ , fragmentos bivalentes que comprenden dos fragmentos Fab conectados por un puente disulfuro en la región de bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste esencialmente de los dominios  $V_H$  y  $C_{H1}$ ; (iv) un fragmento Fv que consiste esencialmente de los dominios  $V_L$  y  $V_H$  de un único brazo de un anticuerpo, (v) un fragmento dAb (Ward et al., Nature 341 , 544-546 (1989) ), que consiste esencialmente de un dominio  $V_H$ ; (vi) una región determinante de complementariedad aislada (CDR) y (vii) una combinación de dos o más CDRs aisladas que pueden estar opcionalmente unidas por un conector sintético. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv,  $V_L$  y  $V_H$ , sean codificados por genes separados, estos pueden ser unidos, usando métodos recombinantes, mediante un conector sintético que posibilite que los mismos sean fabricados como una única cadena de proteína en que las regiones  $V_L$  y  $V_H$  se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como anticuerpos de cadena única o Fv de cadena única (scFv), (mirar por ejemplo Bird et al, Science 242, 423-426 (1988) y Huston et al, PNAS USA 85, 5879-5883 (1988)) . Tales anticuerpos de cadena única están comprendidos dentro del término anticuerpo a menos que sea establecido de otro modo, mencionado o claramente indicado por el contexto. Otras formas de anticuerpos de cadena única, tales como diacuerpos son incluidos dentro del término anticuerpo. Aunque tales fragmentos

estén generalmente incluidos dentro del significado de anticuerpo, estos colectivamente y cada uno independientemente son características únicas de la presente invención, exhibiendo propiedades biológicas y utilidades diferentes.

La presente invención suministra una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo descrito en la presente invención. Las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas con portadores farmacéuticamente aceptables o diluyentes así como cualquier otros adyuvantes y excipientes conocidos de acuerdo con técnicas convencionales, tales como aquellas divulgadas en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19a Edición, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995.

Los portadores farmacéuticamente aceptables o diluyentes, así como cualquier otro adyuvante y excipiente conocido deben ser adecuados para el anticuerpo de la presente invención y para el modo escogido de administración. La idoneidad de los portadores y otros componentes de composiciones farmacéuticas es determinada por el menor impacto significativo sobre las propiedades biológicas deseadas del anticuerpo o composición farmacéutica de la presente invención en el enlace con el antígeno.

La composición farmacéutica de la presente invención también puede incluir diluyentes, sales, tampones, detergentes (por ejemplo, un detergente no iónico, tal como Tween80), estabilizadores (por ejemplo, azúcares o aminoácidos exentos de proteína), conservantes,

solubilizadores y/u otros materiales adecuados para ser incluidos en una composición farmacéutica.

Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser variados de modo que se obtenga una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada en un paciente, con composición y modo de administración particulares, sin ser tóxico para el paciente. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores farmacocinéticos, incluyendo la actividad de las composiciones particulares de la presente invención utilizada, de la vía de administración, del tiempo de administración, de la tasa de excreción del compuesto particular que es utilizado, de la duración del tratamiento, otros medicamentos, compuestos y/o materiales usados en combinación con las composiciones particulares utilizadas, de la edad, sexo, peso, condición, salud general e histórico médico anterior del paciente que es tratado y otros factores bien conocidos en las artes médicas.

La composición farmacéutica puede ser administrada por cualquier vía o modo adecuados. Las vías adecuadas de administrar un compuesto de la presente invención in vivo e in vitro son bien conocidas en la técnica y pueden ser seleccionadas por aquellas personas con habilidad común en el área técnica.

La composición de la presente invención puede ser administrada por intermedio de cualquier vía adecuada, tal como la vía oral, nasal, inhalable, tópica (incluyendo bucal, transdérmica y sublingual), retal, vaginal y/o parenteral.

~~segundo día, los demás permanecieron vivos hasta el final de la prueba. La tasa de supervivencia fue del 66.6%.~~

Por lo tanto, una vez más hemos confirmado que anticuerpo monoclonal MRSA anti-PBP<sub>a</sub> mostraron que otorgan protección cruzada contra enterococos. Sin embargo, las dosis necesarias para conferir protección fueron superiores a las utilizadas contra MRSA en condiciones similares. Esto es probablemente debido a la menor capacidad del anticuerpo para reconocer PBP<sub>5</sub> con la misma eficacia como PBP<sub>2a</sub>, que fue desarrollado.

Por lo tanto, la presente invención descrita aquí - anticuerpos monoclonales anti-PBP<sub>2a</sub>, capaces de unirse específicamente a PBP<sub>2a</sub> y secuencias homólogas - tiene aplicabilidad en infecciones causadas por bacterias que presentan esta proteína o sustancias similares (MRSA, MRSE y *Enterococcus spp.*, y cualquier otro patógeno que tiene una proteína homóloga a PBP<sub>2a</sub>).

Es importante destacar que una vez que estas infecciones son un problema mundial y los ensayos se llevaron a cabo contra los clones MRSA epidémicos conocidos, el producto de la presente invención tiene aplicación en cualquier lugar donde hay infecciones por este agente patógeno.

Los documentos relativos al estado de la técnica del conocimiento de los inventores, citados en el informe descriptivo actual, se enumeran a continuación.

1. KOPP, BJ. NIX DE, ARMSTRONG EP. Clinical and economic analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. The Annals of Pharmacotherapy; 38:1377-82. 2004.

## REIVINDICACIONES

1.- Un anticuerpo monoclonal aislado que se une a la proteína PBP2a de ~~bacterias resistentes a meticilina (MRSA)~~, caracterizado porque comprende en las regiones variables de la cadena ligera y de la cadena pesada secuencias una región de cadena variable que consta de una secuencia de aminoácidos, de acuerdo a lo que se selecciona de grupos seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO.: 6, SEQ ID NO.: 7, SEQ ID NO.: 8, SEQ ID NO.: 12, SEQ ID NO.: 13 y SEQ ID NO.: 14 o ~~correspondientes~~ secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

2.- Un anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1 aislado que ~~se une a la proteína PBP2a de bacterias resistentes a meticilina (MRSA)~~, caracterizado porque las regiones variables de la cadena ligera y de la cadena pesada están codificadas por comprender una región de cadena variable que consta de una secuencias de ADN, de acuerdo a lo que se selecciona de grupos seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO.: 9, SEQ ID NO.: 10, SEQ ID NO.: 11, SEQ ID NO.: 15, SEQ ID NO.: 16 y SEQ ID NO.: 17 o ~~correspondientes~~ secuencias de ADN correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

3.- Un anticuerpo monoclonal aislado que se une a la proteína PBP5 de *Enterococcus spp.*, caracterizado porque comprende ~~una región de cadena variable que consta de una~~ en las regiones variables de la cadena ligera y de la cadena pesada secuencias de aminoácidos, de acuerdo a lo que se selecciona de grupos seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO.: 6, SEQ ID NO.: 7, SEQ ID NO.: 8, SEQ ID NO.: 12, SEQ ID NO.: 13 y SEQ ID NO.: 14 o ~~correspondiente~~ secuencias de ADN correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

4.- Un anticuerpo monoclonal ~~aislado que se une por sí mismo a la proteína PBP5 de *Enterococcus spp.*~~, de acuerdo con las reivindicación 3 caracterizado porque ~~comprende una región de cadena variable que consta de una~~ las regiones variables de la

cadena ligera y de la cadena pesada están codificadas por secuencias de ADN, de acuerdo a lo que se selecciona de grupos seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO.: 9, SEQ ID NO.: 10, SEQ ID NO.: 11, SEQ ID NO.: 15, SEQ ID NO.: 16 y SEQ ID NO.: 17 correspondiente secuencias de ADN correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

5.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1 o 3 caracterizado por presentar en la región variable de la cadena ligera secuencias de aminoácidos seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 8 o secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

6.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1 o 3 caracterizado por presentar en la región variable de la cadena pesada secuencias de aminoácidos seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14 o secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos el 80% idénticas a las mismas.

7.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1 o 3 caracterizado por presentar en la región variable de la cadena ligera, una región CDR1 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 6, una región CDR2 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 7 y una región CDR3 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 8 o secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

8.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1 o 3 caracterizado por presentar en la región variable de la cadena pesada, una región CDR1 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 12, una región CDR2 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 13 o una región CDR3 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 14 o secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

9.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 2 o 4

caracterizado porque las regiones variables de la cadena ligera están codificadas por secuencias de ADN seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 o SEQ ID NO: 11 o secuencias de DNA correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

10.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 2 o 4 caracterizado porque las regiones variables de la cadena pesada están codificadas por secuencias de DNA seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17 o secuencias de DNA correspondientes, por lo menos el 80% idénticas a las mismas.

11.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 2 o 4 caracterizado por ser las regiones variables de la cadena ligera, una región CDR1 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 9, una región CDR2 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 10 y una región CDR3 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 11 o secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos el 80% idénticas a las mismas.

12.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 2 o 4 caracterizado por ser las regiones variables de la cadena pesada, una región CDR1 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 15; una región CDR2 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 16 y una región CDR3 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 17 o secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos el 80% idénticas a las mismas.

13.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 12 caracterizado por ser del isotipo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD o IgE.

14.- Un fragmento de anticuerpo monoclonal que se une a la proteína PBP2a caracterizado porque comprende las secuencias de aminoácidos conforme a lo descrito en las reivindicaciones 1 a 12 y ser funcionalmente equivalente.

5.- 15.-Un método de diagnóstico de resistencia a antimicrobianos beta-lactámicos, caracterizado por comprender la adición de un anticuerpo monoclonal aislado

o sus fracciones, de acuerdo con lo que se define en una de las reivindicaciones 1 o 2 a 14, puro o en asociación con otras sustancias, para muestras bacterianas sospechosas de contener PBP2a o proteínas homólogas a éstas.

6.- 16.-Una composición farmacéutica útil para el tratamiento o prevención de la infección por bacterias que poseen PBP2a o proteínas homólogas a éstas, del *Filo firmicutes* caracterizada porque comprende una cantidad de anticuerpo monoclonal aislado o sus fracciones funcionalmente equivalentes de acuerdo con lo que se define en las reivindicaciones 1 o 2 a 14 y un vehículo farmacéutico, portador o excipiente.

7. 17. Método para tratar o prevenir una infección por una bacteria poseedora de la PBP2A o proteínas homólogas a ésta del *Filo firmicutes* caracterizado por comprender la administración a un paciente humano o animal de una cantidad de un anticuerpo monoclonal aislado conforme a lo definido en las reivindicaciones 1 o 2 a 14.

8.- ~~El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado por una cadena pesada variable que posee una región CDR1 que incluye la secuencia GFSITSSSSCWH (SEQ ID NO.: 12) (CDR1 VH) y la secuencia de ácido nucleico correspondiente, con las posibles degeneraciones.~~

9.- ~~El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado por una cadena pesada variable que posee una región CDR2 que incluye la secuencia RICYEGSISYSPSLKS (SEQ ID NO.: 13) (CDR2 VH) y la secuencia de ácido nucleico correspondiente, con las posibles degeneraciones.~~

10.- ~~El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado por una cadena pesada variable que posee una región CDR3 que incluye la secuencia ENHDWFFDV (SEQ ID NO.: 14) (CDR3 VH) y la secuencia de ácido nucleico correspondiente, con las posibles degeneraciones.~~

11.- ~~El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado por una cadena ligera variable que posee una región CDR1 que incluya la secuencia~~

~~RSSQSIGHNSNGNTYLE (SEQ ID NO.: 6) (CDR1 VL) y la secuencia de ácido nucleico correspondiente, con las posibles degeneraciones.~~

~~12. El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado por una cadena ligera variable que posee una región CDR2 que incluye la secuencia KVSNRFS (SEQ ID NO.: 7) (CDR2 VL) y la secuencia de ácido nucleico correspondiente, con las posibles degeneraciones.~~

~~13. El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado por una cadena ligera variable que posee una región CDR3 que incluye la secuencia FQGSYVPLT (SEQ ID NO.: 8) (CDR3 VL) y la secuencia de ácido nucleico correspondiente, con las posibles degeneraciones.~~

~~14. El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado por una cadena ligera variable que posee una región CDR1 que incluye la secuencia SEQ ID NO.: 9 y la secuencia de nucleótido correspondiente, con las posibles degeneraciones.~~

~~15. El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado por una cadena ligera variable que posee una región CDR2 que incluye la secuencia SEQ ID NO.: 10 y la secuencia de nucleótido correspondiente, con las posibles degeneraciones.~~

~~16. El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado por una cadena ligera variable que posee una región CDR3 que incluye la secuencia SEQ ID NO.: 11 y la secuencia de nucleótido correspondiente, con las posibles degeneraciones.~~

~~17. El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado por una cadena pesada variable que posee una región CDR1 que incluya la secuencia SEQ ID NO.: 15 y la secuencia de nucleótido correspondiente, con las posibles degeneraciones.~~

~~18. El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado por una cadena pesada variable que posee una región CDR2 que incluye la secuencia SEQ ID NO.: 16 y la secuencia de nucleótido correspondiente, con las posibles~~

degeneraciones.

~~\_\_\_\_\_ 19. El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado por una cadena pesada variable que posee una región CDR3 que incluye la secuencia SEQ ID NO.: 16 y la secuencia de nucleótido correspondiente, con las posibles degeneraciones.~~

secuencia completa (excepto la región de fijación de membrana) del gen *mecA* y un fragmento interno del dominio transpeptidasa. Las inmunizaciones se realizaron con 4 dosis y los animales inmunizados y un grupo control no inmunizado fueron desafiados por una infección sistémica con MRSA y una determinación del número de bacterias presentes en los riñones de los animales en dos periodos distintivos. Los resultados obtenidos demostraron que la inmunización con el fragmento de transpeptidasa confieren una mayor reducción en el número de bacterias presentes en los riñones de animales de aquellas en los animales vacunados con el gen *mecA*.

Por lo tanto, vemos que los anticuerpos generados contra el fragmento transpeptidasa proporcionan una mejor protección en las condiciones usadas (vacuna de ADN en modelo murina) que uno por anticuerpos contra una secuencia completa de PBP2a. El fragmento de transpeptidasa incluye el núcleo activo de enzima STQK (SEQ ID NO.: 4).

En consecuencia, basándose en los resultados encontrados, los inventores dirigen la invención para producir anticuerpos monoclonales capaces de reconocer y unirse a la proteína PBP2a y otras proteínas presentando secuencias homólogas a la proteína PBP2a y mediante el uso de fragmento de transpeptidasa que incluye el núcleo activo de enzima.

Ahora se describirá la invención con referencia a ejemplos, que no deben ser considerados como limitación.

La invención se describirá ahora con referencia a los ejemplos, que no deben considerarse limitativos.

## EJEMPLO 1

### Materiales y métodos:

#### 1. Bacterias

Se utilizaron las siguientes cepas *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina: Ibérica-MRSA, COL-MRSA (cedida por Unité des Agents Antimicrobiens - Institut

segundo día; los demás permanecieron vivos hasta el final de la prueba. La tasa de supervivencia fue del 66.6%.

La presente invención suministra un anticuerpo como lo fue definido anteriormente, caracterizado porque el mismo es un anticuerpo del isotipo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE o IgM.

En una forma de realización, la presente invención suministra un fragmento de anticuerpo que comprende por lo menos una porción de un dominio variable de cadena pesada que contiene una o más CDRs de  $V_H$  de un anticuerpo de la presente invención y opcionalmente, también un dominio variable de la cadena ligera que comprenda una o más CDRs de  $V_L$  de un anticuerpo de la presente invención, en que el dominio variable de la cadena pesada y opcionalmente, el dominio variable de cadena ligera, opcionalmente es (son) fundido(s) a una porción adicional, tal como un dominio constante de inmunoglobulina. Las secuencias de dominio constante pueden ser adicionadas a la(s) secuencia(s) de la cadena pesada y/o cadena ligera para formar una especie con cadenas pesada y/o ligera de longitud parcial. Las regiones constantes o porciones de éstas, de cualquier isotipo de anticuerpo pueden ser usadas con este propósito, incluyendo las regiones constantes de IgG, IgM, IgA, IgD e IgE.

El término anticuerpo en la presente invención, a menos que sea establecido de otro modo o claramente contradicho por el contexto, también incluye fragmentos funcionalmente equivalentes de un anticuerpo, es decir, que retienen la capacidad para enlazarse específicamente a un antígeno. Se mostró que la función de enlace del antígeno de un anticuerpo puede ser realizada por los fragmentos de un anticuerpo. Los

ejemplos de fragmentos de enlace comprendidos dentro del término "anticuerpo" incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste de los dominios  $V_L$ ,  $C_L$ , y  $C_{H1}$ ; (ii) fragmentos  $F(ab)_2$ ; y  $F(ab')_2$ , fragmentos bivalentes que comprenden dos fragmentos Fab conectados por un puente disulfuro en la región de bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste esencialmente de los dominios  $V_H$  y  $C_{H1}$ ; (iv) un fragmento Fv que consiste esencialmente de los dominios  $V_L$  y  $V_H$  de un único brazo de un anticuerpo, (v) un fragmento dAb (Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989)), que consiste esencialmente de un dominio  $V_H$ ; (vi) una región determinante de complementariedad aislada (CDR) y (vii) una combinación de dos o más CDRs aisladas que pueden estar opcionalmente unidas por un conector sintético. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv,  $V_L$  y  $V_H$ , sean codificados por genes separados, estos pueden ser unidos, usando métodos recombinantes, mediante un conector sintético que posibilite que los mismos sean fabricados como una única cadena de proteína en que las regiones  $V_L$  y  $V_H$  se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como anticuerpos de cadena única o Fv de cadena única (scFv), (mirar por ejemplo Bird et al, Science 242, 423-426 (1988) y Huston et al, PNAS USA 85, 5879-5883 (1988)). Tales anticuerpos de cadena única están comprendidos dentro del término anticuerpo a menos que sea establecido de otro modo, mencionado o claramente indicado por el contexto. Otras formas de anticuerpos de cadena única, tales como diacuerpos son incluidos dentro del término anticuerpo. Aunque tales fragmentos

estén generalmente incluidos dentro del significado de anticuerpo, estos colectivamente y cada uno independientemente son características únicas de la presente invención, exhibiendo propiedades biológicas y utilidades diferentes.

La presente invención suministra una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo descrito en la presente invención. Las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas con portadores farmacéuticamente aceptables o diluyentes así como cualquier otros adyuvantes y excipientes conocidos de acuerdo con técnicas convencionales, tales como aquellas divulgadas en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19a Edición, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co. , Easton, PA, 1995.

Los portadores farmacéuticamente aceptables o diluyentes, así como cualquier otro adyuvante y excipiente conocido deben ser adecuados para el anticuerpo de la presente invención y para el modo escogido de administración. La idoneidad de los portadores y otros componentes de composiciones farmacéuticas es determinada por el menor impacto significativo sobre las propiedades biológicas deseadas del anticuerpo o composición farmacéutica de la presente invención en el enlace con el antígeno.

La composición farmacéutica de la presente invención también puede incluir diluyentes, sales, tampones, detergentes (por ejemplo, un detergente no iónico, tal como Tween80), estabilizadores (por ejemplo, azúcares o aminoácidos exentos de proteína), conservantes,

solubilizadores y/u otros materiales adecuados para ser incluidos en una composición farmacéutica.

Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser variados de modo que se obtenga una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada en un paciente, con composición y modo de administración particulares, sin ser tóxico para el paciente. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores farmacocinéticos, incluyendo la actividad de las composiciones particulares de la presente invención utilizada, de la vía de administración, del tiempo de administración, de la tasa de excreción del compuesto particular que es utilizado, de la duración del tratamiento, otros medicamentos, compuestos y/o materiales usados en combinación con las composiciones particulares utilizadas, de la edad, sexo, peso, condición, salud general e histórico médico anterior del paciente que es tratado y otros factores bien conocidos en las artes médicas.

La composición farmacéutica puede ser administrada por cualquier vía o modo adecuados. Las vías adecuadas de administrar un compuesto de la presente invención in vivo e in vitro son bien conocidas en la técnica y pueden ser seleccionadas por aquellas personas con habilidad común en el área técnica.

La composición de la presente invención puede ser administrada por intermedio de cualquier vía adecuada, tal como la vía oral, nasal, inhalable, tópica (incluyendo bucal, transdérmica y sublingual), retal, vaginal y/o parenteral.

Por lo tanto, una vez más hemos confirmado que anticuerpo monoclonal MRSA anti-PBP<sub>a</sub> mostraron que otorgan protección cruzada contra enterococos. Sin embargo, las dosis necesarias para conferir protección fueron superiores a las utilizadas contra MRSA en condiciones similares. Esto es probablemente debido a la menor capacidad del anticuerpo para reconocer PBP<sub>5</sub> con la misma eficacia como PBP<sub>2a</sub>, que fue desarrollado.

Por lo tanto, la presente invención descrita aquí - anticuerpos monoclonales anti-PBP<sub>2a</sub>, capaces de unirse específicamente a PBP<sub>2a</sub> y secuencias homólogas - tiene aplicabilidad en infecciones causadas por bacterias que presentan esta proteína o sustancias similares (MRSA, MRSE y *Enterococcus spp.*, y cualquier otro patógeno que tiene una proteína homóloga a PBP<sub>2a</sub>).

Es importante destacar que una vez que estas infecciones son un problema mundial y los ensayos se llevaron a cabo contra los clones MRSA epidémicos conocidos, el producto de la presente invención tiene aplicación en cualquier lugar donde hay infecciones por este agente patógeno.

Los documentos relativos al estado de la técnica del conocimiento de los inventores, citados en el informe descriptivo actual, se enumeran a continuación.

1. KOPP, BJ. NIX DE, ARMSTRONG EP. Clinical and economic analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. The Annals of Pharmacotherapy; 38:1377-82. 2004.

## REIVINDICACIONES

1.- Un anticuerpo monoclonal aislado que se une a la proteína PBP2a, caracterizado porque comprende en las regiones variables de la cadena ligera y de la cadena pesada secuencias de aminoácidos, seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO.: 6, SEQ ID NO.: 7, SEQ ID NO.: 8, SEQ ID NO.: 12, SEQ ID NO.: 13 y SEQ ID NO.: 14 o secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

2.- Un anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque las regiones variables de la cadena ligera y de la cadena pesada están codificadas por secuencias de ADN, seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO.: 9, SEQ ID NO.: 10, SEQ ID NO.: 11, SEQ ID NO.: 15, SEQ ID NO.: 16 y SEQ ID NO.: 17 o secuencias de ADN correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

3.- Un anticuerpo monoclonal aislado que se une a la proteína PBP5 de *Enterococcus spp.*, caracterizado porque comprende en las regiones variables de la cadena ligera y de la cadena pesada secuencias de aminoácidos, seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO.: 6, SEQ ID NO.: 7, SEQ ID NO.: 8, SEQ ID NO.: 12, SEQ ID NO.: 13 y SEQ ID NO.: 14 o secuencias de ADN correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

4.- Un anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 3 caracterizado porque las regiones variables de la cadena ligera y de la cadena pesada están codificadas por secuencias de ADN, seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO.: 9, SEQ ID NO.: 10, SEQ ID NO.: 11, SEQ ID NO.: 15, SEQ ID NO.: 16 y SEQ ID NO.: 17 secuencias de ADN correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

5.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1 o 3 caracterizado por presentar en la región variable de la cadena ligera secuencias de aminoácidos seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 o SEQ ID

NO: 8 o secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

6.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1 o 3 caracterizado por presentar en la región variable de la cadena pesada secuencias de aminoácidos seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14 o secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos el 80% idénticas a las mismas.

7.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1 o 3 caracterizado por presentar en la región variable de la cadena ligera, una región CDR1 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 6, una región CDR2 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 7 y una región CDR3 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 8 o secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

8.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1 o 3 caracterizado por presentar en la región variable de la cadena pesada, una región CDR1 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 12, una región CDR2 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 13 o una región CDR3 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 14 o secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

9.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 2 o 4 caracterizado porque las regiones variables de la cadena ligera están codificadas por secuencias de ADN seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 o SEQ ID NO: 11 o secuencias de DNA correspondientes, por lo menos 80% idénticas a las mismas.

10.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 2 o 4 caracterizado porque las regiones variables de la cadena pesada están codificadas por secuencias de DNA seleccionadas de las secuencias SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 17 o secuencias de DNA correspondientes, por lo menos el 80% idénticas a

las mismas.

11.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 2 o 4 caracterizado por ser las regiones variables de la cadena ligera, una región CDR1 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 9, una región CDR2 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 10 y una región CDR3 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 11 o secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos el 80% idénticas a las mismas.

12.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 2 o 4 caracterizado por ser las regiones variables de la cadena pesada, una región CDR1 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 15; una región CDR2 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 16 y una región CDR3 que contiene la secuencia SEQ ID NO: 17 o secuencias de aminoácidos correspondientes, por lo menos el 80% idénticas a las mismas.

13.- Anticuerpo monoclonal de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 12 caracterizado por ser del isotipo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD o IgE.

14.- Un fragmento de anticuerpo monoclonal que se une a la proteína PBP2a caracterizado porque comprende las secuencias de aminoácidos conforme a lo descrito en las reivindicaciones 1 a 12 y ser funcionalmente equivalente.

15.-Un método de diagnóstico de resistencia a antimicrobianos beta-lactámicos, caracterizado por comprender la adición de un anticuerpo monoclonal aislado o sus fracciones, de acuerdo con lo que se define en una de las reivindicaciones 1 a 14, puro o en asociación con otras sustancias, para muestras bacterianas sospechosas de contener PBP2a o proteínas homólogas a éstas.

16.-Una composición farmacéutica útil para el tratamiento o prevención de la infección por bacterias, del *Filo firmicutes* caracterizada porque comprende una cantidad de anticuerpo monoclonal aislado o sus fracciones funcionalmente equivalentes de acuerdo con lo que se define en las reivindicaciones 1 a 14 y un vehículo farmacéutico, portador o excipiente.

17. Método para tratar o prevenir una infección por una bacteria del *Filo firmicutes* caracterizado por comprender la administración a un paciente humano o animal de una cantidad de un anticuerpo monoclonal aislado conforme a lo definido en las reivindicaciones 1a 14.

# TRATADO DE COOPERAÇÃO EM MATÉRIA DE PATENTES

## PCT

### RELATÓRIO PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTEABILIDADE (Capítulo II do Tratado de Cooperação em Matéria de Patentes)

(PCT Artigo 36 e Regra 70)

|                                                                                                                                                        |                                                                           |                                                                |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| Ref. do processo do requerente ou mandatário                                                                                                           | <b>PARA AÇÃO SUPLEMENTAR</b> Ver Formulário PCT/IPEA/416                  |                                                                |
| Depósito internacional Nº<br><b>PCT/BR2010/000263</b>                                                                                                  | Data de depósito internacional( <i>dia/mês/ano</i> )<br><b>10/08/2010</b> | Data de prioridade ( <i>dia/mês/ano</i> )<br><b>10/08/2009</b> |
| Classificação Internacional de Patentes (IPC) ou classificação nacional e IPC<br><b>C07K 16/12 (2006.01) C07K 16/40 (2006.01) A61K 39/40 (2006.01)</b> |                                                                           |                                                                |
| Requerente<br><b>Fundação Oswaldo Cruz</b>                                                                                                             |                                                                           |                                                                |

1. Este relatório é o relatório de exame preliminar internacional, elaborado pela Autoridade responsável pelo Exame Preliminar Internacional de acordo com o Artigo 35 e transmitido ao depositante conforme o Artigo 36.

2. Este RELATÓRIO consiste de um total de 8 folhas, incluindo esta primeira folha.

3. Este relatório é também acompanhado de ANEXOS, que compreendem:

d. ☒ (enviado ao requerente e à Secretaria Internacional) um total de 28 folhas, conforme abaixo:

☐ folhas de descrição, reivindicações e/ou desenhos que tenham sido modificadas e servem de base deste relatório e/ou folhas contendo retificações autorizadas por esta Autoridade (ver Regra 70:16 e Seção 607 das Instruções Administrativas).

☒ folhas que substituem páginas anteriores, mas que esta Autoridade considera que contenham uma modificação que se estende além da exposição que consta no pedido internacional tal como foi depositado, conforme indicado no item 4 do Quadro Nº I e o Quadro Suplementar.

b. ☐ (enviado somente a Secretaria Internacional) um total de (indicar o tipo e o número de suportes eletrônicos) \_\_\_\_\_ contendo uma listagem de sequência, somente em formato eletrônico, conforme indicado no Quadro Suplementar relativo a Listagem de Sequência (ver parágrafo 3 bis do Anexo.C das Instruções Administrativas).

4. Este relatório contém indicações relativas aos seguintes itens:

☒ Quadro I Base da opinião

☐ Quadro II Prioridade

☒ Quadro III Não formulação de opinião a respeito de novidade, atividade inventiva e aplicação industrial

☐ Quadro IV Falta de unidade de invenção

☒ Quadro V Declaração fundamentada na Regra 43bis(a)(i) a respeito de novidade, atividade inventiva e aplicação industrial; citações e explicações em apoio a esta declaração

☐ Quadro VI Certos documentos citados

☒ Quadro VII Irregularidades no pedido internacional

☒ Quadro VIII Observações relativas ao pedido internacional

|                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Data de apresentação do pedido de exame preliminar internacional<br><u>10/03/2011</u>                                                                                                                         | Data da finalização deste relatório:<br><b>23/01/2012</b>                                       |
| Nome e endereço da IPEA/BR<br><b>INPI</b><br>INSTITUTO NACIONAL DA<br>PROPRIEDADE INDUSTRIAL<br>Rua Marink Veiga nº 9, 18º andar<br>cep: 20090-050, Centro - Rio de Janeiro/RJ<br>Nº de Fax: +55 21 3037-3663 | Funcionário autorizado<br><b>Sandra Toshico Tahara</b><br>Nº de telefone: +55 21 3037-3686/3742 |

RELATÓRIO PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE  
PATENTEABILIDADE

Depósito internacional Nº  
PCT/BR2010/000263

Quadro I Base do relatório

1. Em relação ao idioma, este relatório é baseado:

- ☒ no pedido internacional, no idioma em que foi depositado.
- ☐ na tradução do pedido internacional para o \_\_\_\_\_, no qual é o idioma da tradução fornecida para o propósito de:
- ☐ pesquisa internacional (Regras 12.3(a) e 23.1(b)).
- ☐ publicação do depósito internacional (Regra 12.4(a)).
- ☐ exame preliminar internacional (Regras 55.2(a) e/ou 55.3(a)).

2. Com relação aos elementos do depósito internacional, este relatório é baseado *(as folhas de substituição que foram fornecidas ao Escritório receptor, em resposta à solicitação conforme o Artigo 14, estão referidas neste relatório como "inicialmente depositadas" e não estão anexadas a este relatório)*:

- ☐ no depósito internacional como inicialmente depositado/ fornecido
- ☒ na descrição:
- páginas \_\_\_\_\_ 1 a 13 e 15 a 48 \_\_\_\_\_ como inicialmente depositadas/ fornecidas
- páginas\* 14; 14A; 49A; 49B; 49C, 49D e 50 recebidas por esta Autoridade em 16/11/2011
- páginas\* \_\_\_\_\_ recebidas por esta Autoridade em \_\_\_\_\_
- ☒ nas reivindicações:
- páginas \_\_\_\_\_ como inicialmente depositadas/ fornecidas
- páginas\* \_\_\_\_\_, modificadas (acompanhadas de uma declaração) conforme Artigo 19
- páginas\* 1 a 4 recebidas por esta Autoridade em 16/11/2011
- páginas\* \_\_\_\_\_ recebidas por esta Autoridade em \_\_\_\_\_
- ☒ nos desenhos:
- páginas \_\_\_\_\_ 1 a 9 \_\_\_\_\_ como inicialmente depositadas/ fornecidas
- páginas\* \_\_\_\_\_ recebidas por esta Autoridade em \_\_\_\_\_
- páginas\* \_\_\_\_\_ recebidas por esta Autoridade em \_\_\_\_\_
- ☒ a listagem de sequência – ver Quadro Suplementar Relativo à Listagem de Sequência.

3. ☒ As modificações resultaram no cancelamento:

- ☒ da descrição, páginas 14
- ☒ das reivindicações, Nos. 1 a 19
- ☐ dos desenhos, páginas/figuras \_\_\_\_\_
- ☐ listagem de sequência (especificar): \_\_\_\_\_

4. ☒ Este relatório foi formulado como se (algumas das) as modificações anexadas a este relatório e listadas abaixo não tivessem sido feitas, posto que foi considerado que estas se estendem além da divulgação da invenção tal como foi depositada, ou não foram acompanhadas por uma carta indicando as bases das modificações no pedido como depositado, conforme indicada no Quadro Suplementar (Regras 70.2(c) e (c-bis)):

- ☒ da descrição, páginas 49A; 49B; 49C, 49D e 50
- ☒ das reivindicações, Nos. 13, 14, 15 e 16
- ☐ dos desenhos, páginas/figuras \_\_\_\_\_
- ☐ listagem de sequência (especificar): \_\_\_\_\_

5. ☐ Este relatório foi formulado levando em consideração a retificação de um erro evidente autorizado ou notificado por esta Autoridade conforme Regra 91 (Regra 70.2(e)).

6. ☐ Relatório(s) de pesquisa suplementar internacional da(s) Autoridade(s) \_\_\_\_\_ foi recebido e levado em consideração na elaboração deste relatório (Regra 45bis.8(b) e (c)).

\* Se o item 4 for aplicado, algumas ou todas estas páginas podem ser marcadas "substituída".

**RELATÓRIO PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE  
PATENTEABILIDADE**

Depósito internacional Nº

PCT/BR2010/000263

**Quadro III Não formulação de opinião a respeito de novidade, atividade inventiva e aplicação industrial**

Não foi examinada a questão de saber se a invenção reivindicada parece ser nova, ou envolver atividade inventiva (não ser óbvia), ou ser suscetível de aplicação industrial, com respeito:

☐ ao pedido internacional completo.

☒ as reivindicações Nos.: \_\_\_\_\_

17

porque:

☒ o dito depósito internacional, ou as reivindicações Nos.: 17 recebida em 16/11/11 em questão, se referem as seguintes matérias nas quais esta Autoridade não está obrigada a realizar um exame preliminar internacional (*especificar*):

A reivindicação 17 refere-se a método para tratar ou prevenir uma infecção e como tal, não foi buscada (Art. 17 (2)(a)(i), R39.1(iv)). No entanto, já que o referido método está baseado na única etapa de administração a um paciente humano ou animal uma quantidade de um anticorpo monoclonal isolado, este foi utilizado para a formulação desta opinião escrita.

☐ a descrição, as reivindicações ou as figuras (*indicar os elementos particulares abaixo*) ou as reivindicações Nos.: \_\_\_\_\_ em questão, não estão claras, de modo que não é possível formular uma opinião significativa (*especificar*):

☒ as reivindicações, ou as reivindicações Nos.: 13, 14, 15 e 16 em questão, não estão adequadamente fundamentadas na descrição, e portanto não é possível formular uma opinião significativa (*especificar*):

Não será formulada opinião a respeito das reivindicações 13 a 16 uma vez que a matéria está suportada nas páginas emendadas 49A, 49B, 49C, 49D que não podem ser aceitas pois apresentam matéria que se estende além da divulgação da invenção tal como foi depositada (artigo 34.4 a (ii) e regra 70.2 (c)).

☐ não foi formulado um relatório de pesquisa internacional para as reivindicações Nos.: \_\_\_\_\_

☐ não foi possível formular uma opinião significativa sem a listagem de seqüências; o depositante não forneceu no prazo previsto:

☐ uma listagem de seqüências em papel de acordo com a norma prevista no Anexo C das Instruções Administrativas, e tal listagem não estava disponível para a Autoridade responsável pelo Exame Preliminar Internacional em formato e maneira aceitável por esta.

☐ uma listagem de seqüências em formato eletrônico de acordo com a norma prevista no Anexo C das Instruções Administrativas, e tal listagem não estava disponível para a Autoridade responsável pelo Exame Preliminar Internacional em formato e maneira aceitável por esta.

☐ o pagamento da taxa requerida pelo fornecimento fora do prazo da listagem de seqüências, em resposta à solicitação conforme as Regras 13ter.1.(a) ou (b) e 13ter.2.

4. ☒ Ver Quadro Suplementar para mais detalhes.

**RELATÓRIO PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE  
PATENTEABILIDADE**

Depósito internacional Nº

PCT/BR2010/000263

**Quadro V Declaração fundamentada no Artigo 35(2) a respeito de novidade, atividade inventiva e aplicação industrial; citações e explicações em apoio a esta declaração**

**1. Declaração:**

|                      |                |                                     |     |
|----------------------|----------------|-------------------------------------|-----|
| Novidade             | Reivindicações | 1 a 12 e 17 recebidas em 16/11/2011 | SIM |
|                      | Reivindicações | nenhuma                             | NÃO |
| Atividade Inventiva  | Reivindicações | 1 a 12 e 17 recebidas em 16/11/2011 | SIM |
|                      | Reivindicações |                                     | NÃO |
| Aplicação Industrial | Reivindicações | 1 a 12 e 17 recebidas em 16/11/2011 | SIM |
|                      | Reivindicações | nenhumã                             | NÃO |

**2. Citações e explicações (Regra 70.7):**

**1) São feitas referências aos seguintes documentos:**

D1: Saito et al. 1995

D2: Xu et al. 2007

**2) Resumo do objeto reivindicado**

O presente pedido refere-se a anticorpo monoclonal gerado pela imunização com fragmento da proteína de ligação a penicilina PBP2a de *S. aureus* resistente a meticilina. Refere-se também à composição farmacêutica, a método de diagnóstico da resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos, e ao método de tratamento e prevenção de infecção por bactéria possuidora da PBP2a ou proteínas homólogas.

**3) Novidade (Artigo 33 (2) do PCT):**

As matérias das reivindicações 1 a 12 e 17, recebidas em 16/11/2011, são novas de acordo com o Artigo 33 (2) do PCT.

**4) Atividade inventiva (Artigo 33 (3) do PCT)**

As matérias das reivindicações 1 a 12 e 17, recebidas em 16/11/2011, apresentam atividade inventiva de acordo com o Artigo 33 (3) do PCT.

Em análise das matérias reivindicadas nas reivindicações 1 a 12, e 17, recebidas em 16/11/2011, e dos documentos D1 e D2 temos que de fato D1 e D2 utilizaram peptídeos da PBP2a de MRSA, incluindo a região próxima ao centro ativo, como o fragmento empregado neste pedido.

No entanto nos documentos D1 ou D2 não foram observados testes que demonstrassem o efeito bactericida dos anticorpos descritos. Desta forma, apesar de D1 e D2 apresentarem mAbs anti-PBP2a e de D2 apresentar anticorpos com alta afinidade por PBP2a este fato não garante que estes anticorpos tenham efeito bactericida como o anticorpo apresentado no presente pedido.

**5) Aplicação Industrial (Artigo 33 (4) do PCT):**

A matéria das reivindicações 1 a 12 e 17, recebidas em 16/11/2011, possuem aplicação industrial de acordo com o Artigo 33 (4) do PCT.

**RELATÓRIO PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE  
PATENTEABILIDADE**

Depósito internacional Nº  
**PCT/BR2010/000263**

**Quadro VII      Irregularidades no pedido internacional**

Foram observadas as seguintes irregularidades no formato ou no conteúdo do pedido internacional:  
Não foram encontrados dados de depósito dos hibridomas que deram origem aos anticorpos monoclonais do presente pedido de acordo com a regra 13bis. O depositante deve estar ciente de que estas informações referentes a este depósito podem ser requeridas na fase nacional de acordo com a regra 13bis.7.

RELATÓRIO PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE  
PATENTEABILIDADE

Depósito internacional Nº

PCT/BR2010/000263

**Quadro VIII Observações relativas ao pedido internacional**

São feitas as seguintes observações a respeito da clareza das reivindicações, descrição, e figuras ou se as reivindicações estão totalmente fundamentadas no relatório descritivo:

Reivindicações 1 a 12, recebidas em 16/11/2011, não definem a matéria a ser protegida com clareza nos termos do PCT artigo 6 porque a reivindicação 1 não está totalmente suportada pelo relatório descritivo. As reivindicações 1 a 12 estão amplas e contêm matéria que não foi descrita no relatório descritivo de tal forma suficiente para comprovar que o inventor, na época em que a invenção foi feita, tinha a posse de toda a alegada invenção.

Especificamente, a reivindicação 1 está ampla e da maneira como foi formulada inclui em seu escopo anticorpos monoclonais que possuem em sua região variável da cadeia leve e pesada alternativamente as sequências 6, 7, 8, 12, 13, 14, e ainda, regiões variáveis com pelo menos 80% de identidade com as sequências citadas. Este tipo de reivindicação inclui em seu escopo, por exemplo, um anticorpo monoclonal contendo uma região variável contendo a SEQ ID NO: 7, que corresponde ao CDR 2 da cadeia variável pesada, mas não define as outras cinco CDRs que em conjunto estabelecem a ligação ao epítipo, abrindo inúmeras possibilidades de anticorpos monoclonais.

O relatório descritivo e a Listagem de sequências não descrevem todos os anticorpos monoclonais que podem ser incluídos neste escopo diante das inúmeras possibilidades de anticorpos monoclonais abertas pela forma como a dita reivindicação foi formulada.

Na realidade, o relatório descritivo apresenta a caracterização de apenas dois anticorpos monoclonais denominados de 10 e 38, onde apenas no último foram determinadas as CDRs da região variável leve e pesada.

A possibilidade de combinação de CDRs e ainda a possibilidade de substituições conservativas de aminoácidos nestas sequências abrem inúmeras possibilidades de diferentes anticorpos que podem não manter as características reveladas no pedido. Não existe nenhuma base para que se acredite que todas as possibilidades de combinações de CDRs e ainda que todas as possibilidades de substituições conservativas de aminoácidos possam ser incluídas no escopo das reivindicações.

Corroborando o acima exposto, o documento WO2006081171 descreve a SEQ ID NO: 13 que possui 100% de identidade com a SEQ ID NO: 7 do anticorpo reivindicado. Entretanto, o agente específico de ligação descrito se liga ao antígeno beta-amiloide não havendo nenhuma evidência que este agente se ligue à proteína PBP2a apesar de possuir 100% de identidade com a SEQ ID 7 conforme definida na reivindicação 1.

As reivindicações 2 e 4 (recebidas em 16/11/2011) não definem a matéria a ser protegida com clareza nos termos do PCT artigo 6 porque estas reivindicações referem-se a anticorpos monoclonais, porém a região de cadeia variável do anticorpo está definida por sequências de DNA.

As reivindicações 13 a 16, recebidas em 16/11/2011, não podem ser aceites pois a matéria não está suportada pelo relatório descritivo nos termos do PCT artigo 6. Estas reivindicações estão suportadas nas páginas 49A, 49B, 49C, 49D que não podem ser aceites porque as mesmas apresentam matéria que se estende além da divulgação da invenção tal como foi depositada (artigo 34.4 a (ii) do PCT).

RELATÓRIO PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE  
PATENTEABILIDADE

Depósito internacional Nº  
PCT/BR2010/000263

Quadro Suplementar Relativo à Listagem de Sequências

Continuação do Quadro Nº I, item 2:

1. Em relação a qualquer sequência de nucleotídeo e/ou aminoácido descritas no depósito internacional e necessárias para a invenção reivindicada, este relatório foi formulado com base na listagem de sequência depositada ou fornecida:

a. (meios)

☒ em papel

☒ em formato eletrônico

b. (tempo)

☒ no pedido internacional como depositado

☐ juntamente com o pedido internacional em formato eletrônico

☐ posteriormente para esta Autoridade para o propósito da pesquisa e/ou exame

☐ como modificação\*, para esta Autoridade, em \_\_\_\_\_

2. ☒ Adicionalmente, no caso em que mais de uma versão ou cópia de uma listagem de sequências tenha sido depositada ou fornecida, foi entregue a declaração requerida de que a informação contida nas cópias posteriores ou adicionais é idêntica à depositada, tal como apresentada, ou não ultrapassa o fornecido inicialmente.

3. Comentários adicionais:

Em 26/03/2010, a presente Autoridade de pesquisa solicitou ao depositante apresentação de declaração conforme as normas previstas no Anexo C das Instruções administrativas, acompanhadas de respectiva declaração.

Em correspondência datada 16 de novembro de 2010 a depositante apresentou a declaração conforme solicitada juntamente com dois CDs contendo o arquivo eletrônico da listagem de sequências.

\*Se o item 4 no Quadro I for aplicado, a listagem de sequência, que faz parte da base do relatório, podem ser marcadas "substituída".

**RELATÓRIO PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE  
PATENTEABILIDADE**

Depósito internacional Nº  
**PCT/BR2010/000263**

**Quadro Suplementar**

No caso do espaço em qualquer quadro precedente não for suficiente.

Continuação de: **Quadro 1 - Item 4**

Em resposta a opinião escrita, a depositante apresentou novas páginas 14, 14A, 49A, 49B, 49C, 49D que foram recebidas em 16/11/2011.

As modificações contidas nas páginas 49A, 49B, 49C, 49D não podem ser aceitas de acordo com o artigo 34.4 a (ii) porque estas páginas apresentam matéria que se estendem além da divulgação da invenção tal como foi depositada.

As informações apresentadas nas 49A, 49B, 49C, 49D que se estendem além da divulgação da invenção tal como foi depositada referem-se :

- a descrição das sequências de domínio constante do isotipo IgG, IgD, IgA, IgE ou IgM que podem ser adicionadas às cadeias variáveis leves e pesadas (página 49A);
- fato do termo "anticorpo" incluir fragmentos funcionalmente equivalentes de um anticorpo que retenham a capacidade para ligar especificamente a um antígeno (página 49A);
- os exemplos de fragmentos de ligação abrangidos dentro do termo "anticorpo" que incluem: um fragmento monovalente; fragmentos bivalentes, fragmento Fd, fragmento Fv, scFv, fragmento dAb, uma combinação de duas ou mais CDRs isoladas unidas por um ligador sintético e diacorpos (página 49B);
- as composições farmacêuticas também incluem diluentes, sais tampões, detergentes, estabilizadores, conservantes, solubilizadores e/ou outros materiais adequados para a inclusão em uma composição farmacêutica (páginas 49C e 49D);
- os níveis de dosagem reais dos ingredientes ativos nas composições farmacêuticas (página 49D); e
- as formas de administração oral, retal e vaginal.

Todos estes itens relatados acima não foram descritos no pedido original conforme o artigo 5 do PCT e portanto não podem ser aceitas de acordo com o artigo 34.4 a (ii) do PCT.

Como as modificações contidas nas páginas 49A, 49B, 49C, 49D não foram aceitas, a modificação apresentada na página 50, recebida em 16/11/2011, não pode ser aceita tendo em vista que as linhas 1 e 2 devem continuar para dar continuidade ao texto apresentado na página 49 (como inicialmente depositada).

As reivindicações 13 a 16, recebidas em 16/11/2011, não podem ser aceitas pois a matéria não está suportada pelo relatório descritivo nos termos do PCT artigo 6. Estas reivindicações estão suportadas nas modificações apresentadas nas páginas 49A, 49B, 49C, 49D que não podem ser aceitas porque as mesmas apresentam matéria que se estende além da divulgação da invenção tal como foi depositada (artigo 34.4 a (ii) do PCT).

BHERING, ALMEIDA & ASSOCIADOS  
*Propriedade Intelectual*

Rua Beneditinos, 16 – 11º andar  
20081-050 Rio de Janeiro, RJ  
Brasil

Tel.: 55 21 2516 6698  
Fax: 55 21 2516 1380  
e-mail: bhering-almeida@gbt.com.br

32

Recebido em  
16/11/2011  
Gisela Aparecida Silva Nogueira  
Chefe da Divisão Técnica do PCT  
Portaria INPI/PR nº 736 de 29/11/2010  
Matrícula SIAPE nº 1548888  
DTPCT/CGPCT/DIAPA

PARA: Instituto Nacional da Propriedade Industrial - INPI  
IPEA/BR  
Rua Mayrink Veiga nº 9, 18º andar  
CEP 20090-050, Centro – Rio de Janeiro, RJ

Ref: Pedido de Patente PCT/BR2010/000263  
Data depósito: 10 de agosto de 2010  
Depositante: Fundação Oswaldo Cruz, et al.  
Referencia Agente: P1745

---

## RESPOSTA A OPINIÃO ESCRITA DA AUTORIDADE RESPONSÁVEL PELO EXAME PRELIMINAR INTERNACIONAL

A Requerente apresenta a seguir seus esclarecimentos sobre o segundo parecer da Autoridade Responsável pelo Exame Preliminar Internacional.

Tendo em vista que o estado da arte citado, salientamos que o conteúdo dos ditos documentos é diferente da matéria para a qual se requerer a proteção e, assim, a matéria técnica reivindicada no presente pedido não pode ser considerada óbvia a um especialista na arte.

Entretanto, de forma a corrigir algumas deficiências e objeções contidas na Segunda Opinião Escrita, estamos apresentando os seguintes documentos:

- copia revisada (marcada) das reivindicações modificadas 1 a 17
- cópia revisada (marcada) das páginas 14, 49 e 50 do relatório modificado
- copia final das reivindicações modificadas
- cópia final das páginas 14, 49 e 50 do relatório descritivo modificado.

As reivindicações modificadas e relatório modificado são ora apresentados com a finalidade de substituir aqueles existentes no presente pedido.

As cópias revisadas (marcadas) são incluídas para informação da Divisão de Exame e mostram as modificações introduzidas no pedido original da seguinte forma:

- (i) ressaltadas como **adição** – em negrito e sublinhadas
- (ii) ressaltadas como ~~deleções~~ - riscadas

## **ESCLARECIMENTOS SOBRE AS MODIFICAÇÕES**

### Com relação ao Quadro VII

A página 14 do relatório descritivo foi modificada a fim de se incorporar o termo “Exemplo 1” imediatamente após a linha 24.

Também na página 14 do relatório descritivo foi inserida a expressão “sequência completa da PBP2a”, na linha 14 da mesma página.

### Com relação ao Quadro VIII

O examinador considera que as justificativas anteriormente fornecidas pelo requerente não foram consideradas pertinentes. O examinador enfatiza que as reivindicações não definem a matéria a ser protegida com clareza. Neste sentido, apresentamos um novo quadro reivindicatório a fim de melhor definir o objeto reivindicado.

Na reivindicação 1 foi inserido termo explicativo para menção às regiões variáveis das cadeias leves e pesadas.

As reivindicações 2 a 4 foram alteradas no intuito de informarem que as regiões variáveis das cadeias leves e pesada do anticorpo são codificadas por sequências de DNA.

Ainda foram realizadas alterações no quadro reivindicatório no intuito de melhor caracterizar as relações de dependência.

As reivindicações 8 a 19 foram substituídas pelas novas reivindicações 5 a 12. Estas novas reivindicações trazem maior definição e clareza para a matéria a ser protegida, além de contemplarem novas relações de dependência, melhor caracterizando o produto descrito. Adicionalmente, as modificações das

BHERING, ALMEIDA & ASSOCIADOS  
*Propriedade Intelectual*

reivindicações proporcionam um melhor agrupamento das categorias de reivindicações.

As reivindicações 13 e 14 foram inseridas no quadro reivindicatório no intuito de melhor caracterizar o objeto da invenção. Estas reivindicações estão suportadas nas novas páginas 49 do relatório descritivo.

As reivindicações 5 a 7 foram substituídas pelas novas reivindicações 15 a 17. As novas reivindicações 15 a 17 contemplam alterações na definição de seu objeto, pois definem esse objeto através das reivindicações 1 a 14, não mais pelas reivindicações 1 ou 2. Estas novas reivindicações ainda incorporam o termo "suas frações funcionalmente equivalentes".

Se esta Autoridade responsável pelo exame preliminar internacional entender que as presentes modificações não atendem às objeções contidas na Segunda Opinião Escrita, a ora Interessada manifesta seu interesse em obter uma oportunidade adicional para apresentar modificações ou argumentos.

Atenciosamente,



Katia F de Almeida  
Bhering, Almeida & Associados

Anexos:

Páginas 14, 49A-49D, 50 do relatório descritivo

Páginas das reivindicações

seqüência completa (menos a região de fixação à membrana) do gene *mecA* e um fragmento interno do domínio transpeptidase. As imunizações foram feitas com 4 doses, e os animais imunizados e um grupo controle não imunizado foram desafiados por infecção sistêmica com MRSA e determinação do número de bactérias presentes nos rins dos animais em dois períodos distintos. Os resultados obtidos mostraram que a imunização com o fragmento da transpeptidase conferiu uma redução maior do número de bactérias presentes nos rins dos animais do que nos imunizados com o gene *mecA*.

Assim, observamos que os anticorpos gerados contra o fragmento da transpeptidase proporcionaram uma melhor proteção nas condições empregadas (vacina de DNA em modelo murino) do que os anticorpos contra a sequencia completa da PBP2a. O fragmento da transpeptidase abrange o centro ativo da enzima STQK (SEQ ID NO:4).

Assim, com base nos resultados encontrados, os inventores direcionaram a invenção para a produção de anticorpos monoclonais capazes de reconhecer e se ligar à proteína PBP2a e outras proteínas que apresentem seqüências homólogas à proteína PBP2a, e que utilizam o fragmento da transpeptidase que abrange o centro ativo da enzima.

A invenção será agora descrita com referência aos Exemplos, os quais não devem ser considerados limitativos.

## Exemplo 1

### MATERIAIS E MÉTODOS:

#### 1. Bactérias:

Foram empregadas as seguintes cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina: Iberian-MRSA, COL-MRSA (cedidos pela Unité des Agents Antimicrobiens - Institut

segundo dia, permanecendo os restantes vivos até o final do experimento. A taxa de sobrevivência foi de 66,6%.

A presente invenção fornece um anticorpo como definido acima, caracterizado em que o mesmo é um anticorpo do isotipo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE ou IgM.

Em uma forma de realização, a presente invenção fornece um fragmento de anticorpo que compreende pelo menos uma porção de um domínio variável de cadeia pesada contendo uma ou mais CDRs de  $V_H$  de um anticorpo da presente invenção e opcionalmente também um domínio variável de cadeia leve que compreenda uma ou mais CDRs de  $V_L$  de um anticorpo da presente invenção, em que o domínio variável de cadeia pesada e opcionalmente o domínio variável de cadeia leve, opcionalmente é (são) fundido(s) a uma porção adicional, tal como um domínio constante de imunoglobulina. As sequências de domínio constante podem ser adicionadas à(s) sequência(s) de cadeia pesada e/ou cadeia leve para formar espécie com cadeias pesada e/ou leve de comprimento parcial. As regiões constantes ou porções destas, de qualquer isótipo de anticorpo podem ser usadas para este propósito, incluindo as regiões constantes de IgG, IgM, IgA, IgD e IgE.

O termo anticorpo na presente invenção, a menos que de outro modo estabelecido ou claramente contradito pelo contexto, também inclui fragmentos funcionalmente equivalentes de um anticorpo, ou seja, que retenham a capacidade para ligar especificamente a um antígeno. Foi mostrado que a função de ligação de antígeno de um anticorpo pode ser realizada pelos fragmentos de um anticorpo. Os

exemplos de fragmentos de ligação abrangidos dentro do termo "anticorpo" incluem (i) um fragmento Fab, um fragmento monovalente que consiste dos domínios  $V_L$ ,  $C_L$  e  $C_{H1}$ ; (ii) fragmentos  $F(ab)_2$  e  $F(ab')_2$ , fragmentos bivalentes que  
5 compreendem dois fragmentos Fab ligados por uma ponte de dissulfeto na região de dobradiça; (iii) um fragmento Fd que consiste essencialmente dos domínios  $V_H$  e  $CH1$ ; (iv) um fragmento Fv que consiste essencialmente dos domínios  $V_L$  e  $V_H$  de um único braço de um anticorpo, (v) um fragmento dAb  
10 (Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989)), que consiste essencialmente de um domínio  $V_H$ ; (vi) uma região isolada determinadora de complementaridade (CDR) e (vii) uma combinação de duas ou mais CDRs isoladas que podem ser opcionalmente unidas por um ligador sintético. Além disso,  
15 embora os dois domínios do fragmento Fv,  $V_L$  e  $V_H$ , sejam codificados por genes separados, estes podem ser unidos, usando métodos recombinantes, por um ligador sintético que possibilite que os mesmos sejam fabricados como uma única cadeia de proteína em que as regiões  $V_L$  e  $V_H$  se emparelham  
20 para formar moléculas monovalentes (conhecidas como anticorpos de cadeia única ou Fv de cadeia única (scFv), (ver por exemplo Bird et al, Science 242, 423-426 (1988) e Huston et al, PNAS USA 85, 5879-5883 (1988)). Tais anticorpos de cadeia única estão abrangidos dentro do termo  
25 anticorpo a menos que de outro modo estabelecido mencionado ou claramente indicado pelo contexto. Outras formas de anticorpos de cadeia única, tais como diacorpos são incluídos dentro do termo anticorpo. Embora tais fragmentos

sejam no geral incluídos dentro do significado de anticorpo, estes coletivamente e cada um independentemente são características únicas da presente invenção, exibindo propriedades biológicas e utilidades diferentes.

5        A presente invenção fornece uma composição farmacêutica que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo descrito na presente invenção. As composições farmacêuticas podem ser formuladas com carreadores farmacêuticamente aceitáveis ou diluentes assim como  
10 qualquer outros adjuvantes e excipientes conhecidos de acordo com técnicas convencionais tais como aquelas divulgadas em Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19ª Edição, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995.

15        Os carreadores farmacêuticamente aceitáveis ou diluentes assim como quaisquer outros adjuvantes e excipientes conhecidos devem ser adequados para o anticorpo da presente invenção e o modo escolhido de administração. A adequabilidade para carreadores e outros componentes de  
20 composições farmacêuticas é determinada pelo menor impacto significativo sobre as propriedades biológicas desejadas do anticorpo ou composição farmacêutica da presente invenção na ligação com o antígeno.

25        Uma composição farmacêutica da presente invenção também pode incluir diluentes, sais, tampões, detergentes (por exemplo, um detergente não iônico, tal como Tween80), estabilizadores, estabilizadores (por exemplo, açúcares ou aminoácidos isentos de proteína), conservantes,

solubilizadores e/ou outros materiais adequados para a inclusão em uma composição farmacêutica.

Os níveis de dosagem reais dos ingredientes ativos nas composições farmacêuticas da presente invenção podem ser variados de modo a obter uma quantidade do ingrediente ativo que seja eficaz para se obter a resposta terapêutica desejada a um paciente, com composição e modo de administração particulares, sem ser tóxico para o paciente. O nível de dosagem selecionado dependerá de uma variedade de fatores farmacocinéticos incluindo a atividade das composições particulares da presente invenção utilizada, da via de administração, do tempo de administração, da taxa de excreção do composto particular que é utilizado, da duração do tratamento, outros medicamentos, compostos e/ou materiais usados em combinação com as composições particulares utilizadas, da idade, sexo, peso, condição, saúde geral e histórico médico anterior do paciente que é tratado e outros fatores bem conhecidos nas artes médicas.

A composição farmacêutica pode ser administrada por qualquer via ou modo adequados. As vias adequadas de administrar um composto da presente invenção *in vivo* e *in vitro* são bem conhecidas na técnica e podem ser selecionados por aqueles de habilidade comum na técnica.

A composição da presente invenção pode ser administrada por intermédio de qualquer via adequada, tal como uma via oral, nasal, inalável, tópica (incluindo bucal, transdérmica e sublingual), retal, vaginal e/ou parenteral.

~~segundo dia, permanecendo os restantes vivos até o final do experimento. A taxa de sobrevivência foi de 66,6%.~~

Portanto, mais uma vez confirmamos que o anticorpo monoclonal anti-PBP2a de MRSA mostrou conferir proteção cruzada contra enterococos. Entretanto, as doses necessárias para conferir proteção foram superiores as empregadas contra MRSA em condições semelhantes. Isto se deve provavelmente a menor capacidade do anticorpo de reconhecer a PBP5 com a mesma eficácia que a PBP2a, para o qual foi desenvolvido.

Portanto, a presente invenção aqui descrita - anticorpos monoclonais anti-PBP2a, capazes de se ligar especificamente a PBP2a e seqüências homólogas, tem aplicabilidade em infecções causadas por bactérias que apresentem esta proteína ou similares (MRSA, MRSE e *Enterococcus* spp. e qualquer outro patógeno que venha a possuir uma proteína homóloga à PBP2a).

É importante enfatizar que uma vez que estas infecções são um problema de abrangência mundial e os ensaios foram realizados contra os principais clones epidêmicos de MRSA conhecidos, o produto da presente invenção possui aplicabilidade em qualquer lugar em que exista infecções por este patógeno.

A seguir são relacionados os documentos pertencentes ao estado da arte de conhecimento dos inventores e citados no presente relatório descritivo.

1. KOPP, BJ. NIX DE, ARMSTRONG EP. Clinical and economic analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. The Annals of Pharmacotherapy; 38:1377-82. 2004.

## REIVINDICAÇÕES

1. Anticorpo monoclonal isolado que se liga à proteína PBP2a ~~de bactérias resistentes à meticilina (MRSA)~~ caracterizado por compreender nas regiões variáveis da  
5 cadeia leve e da cadeia pesada sequências ~~uma região de~~  
~~cadeia variável compreendendo uma sequência de amino ácidos~~  
~~conforme selecionado do grupo~~ selecionadas das sequências  
SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:12, SEQ ID  
NO:13 e SEQ ID NO:14 ou ~~correspondentes~~ sequências de amino  
10 ácidos correspondentes de pelo menos 80% idênticas as  
mesmas.

2. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 1  
~~isolado que se liga à proteína PBP2a de bactérias~~  
~~resistentes à meticilina (MRSA)~~ caracterizado por serem as  
15 regiões variáveis da cadeia leve e da cadeia pesada  
codificadas por ~~compreender uma região de cadeia variável~~  
~~compreendendo uma sequências de DNA conforme selecionado do~~  
~~grupo~~ selecionadas das sequências SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10,  
SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16 e SEQ ID NO:17 ou  
20 ~~correspondentes~~ sequências de DNA correspondentes de pelo  
menos 80% idênticas as mesmas.

3. Anticorpo monoclonal isolado que se liga à proteína PBP5 de *Enterococcus* spp. caracterizado por compreender ~~uma~~  
~~região de cadeia variável compreendendo uma~~ nas regiões  
25 variáveis da cadeia leve e da cadeia pesada sequências de  
amino ácidos ~~conforme selecionado do grupo~~ selecionadas das  
sequências SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID  
NO:12, SEQ ID NO:13 e SEQ ID NO:14 ou ~~correspondentes~~

seqüências de amino ácidos correspondentes de pelo menos 80% idênticas as mesmas.

4. Anticorpo monoclonal ~~isolado que se liga à proteína~~  
~~BBP5 de Enterococcus spp. de acordo com a reivindicação 3~~  
5 ~~caracterizado por compreender uma região de cadeia variável~~  
~~compreendendo uma~~ as regiões variáveis da cadeia leve e da  
cadeia pesada codificadas por seqüências de DNA ~~conforme~~  
~~selecionado do grupo~~ selecionadas das seqüências SEQ ID  
NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16  
10 e SEQ ID NO:17 ou ~~correspondentes~~ seqüências de DNA  
correspondentes de pelo menos 80% idênticas as mesmas.

5. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 1  
ou 3 caracterizado por apresentar na região variável da  
cadeia leve seqüências de amino ácidos selecionadas das  
15 seqüências SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 ou SEQ ID NO: 8 ou  
seqüências de amino ácidos correspondentes pelo menos 80%  
idênticas as mesmas.

6. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 1  
ou 3 caracterizado por apresentar na região variável da  
20 cadeia pesada seqüências de amino ácidos selecionadas das  
seqüências SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 ou SEQ ID NO: 14 ou  
seqüências de amino ácidos correspondentes pelo menos 80%  
idênticas as mesmas.

7. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 1  
25 ou 3 caracterizado por apresentar na região variável da  
cadeia leve, uma região CDR1 contendo seqüência SEQ ID NO:  
6, uma região CDR2 contendo seqüência SEQ ID NO: 7 e uma  
região CDR3 contendo seqüência SEQ ID NO: 8 ou seqüências de

amino ácidos correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

5      8. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 1 ou 3 caracterizado por apresentar na região variável da cadeia pesada, uma região CDR1 contendo sequência SEQ ID NO: 12, uma região CDR2 contendo sequência SEQ ID NO: 13 e uma região CDR3 contendo sequência SEQ ID NO: 14 ou sequências de amino ácidos correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

10      9. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 2 ou 4 caracterizado por serem as regiões variáveis da cadeia leve codificadas por sequências de DNA selecionadas das sequências SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10 ou SEQ ID NO:11 ou sequências de DNA correspondentes pelo menos 80% idênticas  
15 as mesmas.

10. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 2 ou 4 caracterizado por serem as regiões variáveis da cadeia pesada codificadas por sequências de DNA selecionadas das sequências SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16 ou SEQ ID NO:17 ou  
20 sequências de DNA correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

11. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 2 ou 4 caracterizado por serem as regiões variáveis da cadeia leve, uma região CDR1 contendo sequência SEQ ID NO: 9, uma região CDR2 contendo sequência SEQ ID NO: 10 e uma  
25 região CDR3 contendo sequência SEQ ID NO: 11 ou sequências de amino ácidos correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

12. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 2 ou 4 caracterizado por serem as regiões variáveis da cadeia pesada, uma região CDR1 contendo sequência SEQ ID NO: 15, uma região CDR2 contendo sequência SEQ ID NO: 16 e uma região CDR3 contendo sequência SEQ ID NO: 17 ou sequências de amino ácidos correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

13. Anticorpo monoclonal de acordo com as reivindicações 1 a 12 caracterizado por ser do isotipo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD ou IgE.

14. Fragmento de anticorpo monoclonal que se liga à proteína PBP2a caracterizado por compreender as sequências de amino ácidos conforme descrito nas reivindicações 1 a 12 e ser funcionalmente equivalente.

~~5-~~ 15. Método de diagnóstico da resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos caracterizado por compreender a adição de um anticorpo monoclonal isolado ou suas frações conforme definido em uma das reivindicações 1 ~~ou 2~~ a 14 puro ou em associação a outras substâncias a uma amostra bacteriana suspeita de conter a PBP2a ou proteínas homólogas a esta.

~~6-~~ 16. Composição farmacêutica para o tratamento ou prevenção de uma infecção por bactérias ~~possuidoras da PBP2a ou proteínas homólogas a esta,~~ do Filo Firmicutes, caracterizado por compreender uma quantidade do anticorpo monoclonal isolado ou suas frações funcionalmente equivalentes conforme definido nas reivindicações 1 ~~ou 2~~ a 14 e um veículo farmacêutico, carreador ou excipiente.

7. 17. Método para tratar ou prevenir uma infecção por uma bactéria ~~possuidora da PBP2a ou proteínas homólogas a esta~~ do Filo Firmicutes caracterizado por compreender a administração a um paciente humano ou animal de uma  
5 quantidade de um anticorpo monoclonal isolado conforme definido nas reivindicações 1 ~~ou 2~~ a 14.

~~8. Anticorpo de acordo com a reivindicação 1 caracterizado por a cadeia pesada variável possuir uma região CDR1 que inclui a sequência **GFSITSSSSCWH** (SEQ ID NO: 12) (CDR1 VH) e a sequência de ácidos nucleicos correspondente, com as degenerações possíveis.~~  
10

~~9. Anticorpo de acordo com a reivindicação 1 caracterizado por a cadeia pesada variável possui uma região CDR2 que inclui a sequência **RICYEGSISYSPSLKS** (SEQ ID NO:13) (CDR2 VH) e a sequência de ácidos nucleicos correspondente, com as degenerações possíveis.~~  
15

~~10. Anticorpo de acordo com a reivindicação 1 caracterizado por a cadeia pesada variável possuir uma região CDR3 que inclui a sequência **ENHDWFFDV** (SEQ ID NO:14) (CDR3 VH) e a sequência de ácidos nucleicos correspondente, com as degenerações possíveis.~~  
20

~~11. Anticorpo de acordo com a reivindicação 1 caracterizado por a cadeia leve variável possuir uma região CDR1 que inclui a sequência **RSSQSIGHNNGNTYLE** (SEQ ID NO:6) (CDR1 VL) e a sequência de ácidos nucleicos correspondente, com as degenerações possíveis.~~  
25

~~12. Anticorpo de acordo com a reivindicação 1 caracterizado por a cadeia leve variável possuir uma região CDR2 que inclui a sequência **KVSNRFS** (SEQ ID NO:7) (CDR2 VL)~~

~~e a sequência de ácidos nucleicos correspondente, com as degenerações possíveis~~

13. ~~Anticorpo de acordo com a reivindicação 1~~  
~~caracterizado por a cadeia leve variável possuir uma região~~  
5 ~~CDR3 que inclui a sequência **FQGSYVPLT** (SEQ ID NO:8) (CDR3~~  
~~VL) e a sequência de ácidos nucleicos correspondente, com as~~  
~~degenerações possíveis.~~

14. ~~Anticorpo de acordo com a reivindicação 2~~  
~~caracterizado por a cadeia leve variável possuir uma região~~  
10 ~~CDR1 que inclui a sequência a SEQ ID NO:9 e a sequência de~~  
~~nucleotídeos correspondente, com as degenerações possíveis.~~

15. ~~Anticorpo de acordo com a reivindicação 2~~  
~~caracterizado por a cadeia leve variável possuir uma região~~  
~~CDR2 que inclui a sequência a SEQ ID NO:10 e a sequência de~~  
15 ~~nucleotídeos correspondente, com as degenerações possíveis.~~

16. ~~Anticorpo de acordo com a reivindicação 2~~  
~~caracterizado por a cadeia leve variável possuir uma região~~  
~~CDR3 que inclui a sequência a SEQ ID NO:11 e a sequência de~~  
~~nucleotídeos correspondente, com as degenerações possíveis.~~

20 17. ~~Anticorpo de acordo com a reivindicação 2~~  
~~caracterizado por a cadeia pesada variável possuir uma~~  
~~região CDR1 que inclui a sequência a SEQ ID NO:15 e a~~  
~~sequência de nucleotídeos correspondente, com as~~  
~~degenerações possíveis.~~

25 18. ~~Anticorpo de acordo com a reivindicação 2~~  
~~caracterizado por a cadeia pesada variável possuir uma~~  
~~região CDR2 que inclui a sequência a SEQ ID NO:16 e a~~  
~~sequência de nucleotídeos correspondente, com as~~  
~~degenerações possíveis.~~

19. ~~Anticorpo de acordo com a reivindicação 2~~  
~~caracterizado por a cadeia pesada variável possuir uma~~  
~~região CDR3 que inclui a sequência a SEQ ID NO:16 e a~~  
~~sequência de nucleotídeos correspondente, com as~~  
5 ~~degenerações possíveis.~~

54

seqüência completa (menos a região de fixação à membrana) do gene *mecA* e um fragmento interno do domínio transpeptidase. As imunizações foram feitas com 4 doses, e os animais imunizados e um grupo controle não imunizado foram desafiados por infecção sistêmica com MRSA e determinação do número de bactérias presentes nos rins dos animais em dois períodos distintos. Os resultados obtidos mostraram que a imunização com o fragmento da transpeptidase conferiu uma redução maior do número de bactérias presentes nos rins dos animais do que nos imunizados com o gene *mecA*.

Assim, observamos que os anticorpos gerados contra o fragmento da transpeptidase proporcionaram uma melhor proteção nas condições empregadas (vacina de DNA em modelo murino) do que os anticorpos contra a sequência completa da PBP2a. O fragmento da transpeptidase abrange o centro ativo da enzima STQK (SEQ ID NO:4).

Assim, com base nos resultados encontrados, os inventores direcionaram a invenção para a produção de anticorpos monoclonais capazes de reconhecer e se ligar à proteína PBP2a e outras proteínas que apresentem seqüências homólogas à proteína PBP2a, e que utilizam o fragmento da transpeptidase que abrange o centro ativo da enzima.

A invenção será agora descrita com referência aos Exemplos, os quais não devem ser considerados limitativos.

## Exemplo 1

### MATERIAIS E MÉTODOS:

#### 1. Bactérias:

Foram empregadas as seguintes cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina: Iberian-MRSA, COL-MRSA (cedidos pela Unité des Agents Antimicrobiens - Institut

segundo dia, permanecendo os restantes vivos até o final do experimento. A taxa de sobrevivência foi de 66,6%.

A presente invenção fornece um anticorpo como definido acima, caracterizado em que o mesmo é um anticorpo do  
5 isotipo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE ou IgM.

Em uma forma de realização, a presente invenção fornece um fragmento de anticorpo que compreende pelo menos uma porção de um domínio variável de cadeia pesada contendo uma ou mais CDRs de  $V_H$  de um anticorpo da presente invenção e  
10 opcionalmente também um domínio variável de cadeia leve que compreenda uma ou mais CDRs de  $V_L$  de um anticorpo da presente invenção, em que o domínio variável de cadeia pesada e opcionalmente o domínio variável de cadeia leve, opcionalmente é (são) fundido(s) a uma porção adicional, tal  
15 como um domínio constante de imunoglobulina. As sequências de domínio constante podem ser adicionadas à(s) sequência(s) de cadeia pesada e/ou cadeia leve para formar espécie com cadeias pesada e/ou leve de comprimento parcial. As regiões constantes ou porções destas, de qualquer isótipo de  
20 anticorpo podem ser usadas para este propósito, incluindo as regiões constantes de IgG, IgM, IgA, IgD e IgE.

O termo anticorpo na presente invenção, a menos que de outro modo estabelecido ou claramente contradito pelo contexto, também inclui fragmentos funcionalmente  
25 equivalentes de um anticorpo, ou seja, que retenham a capacidade para ligar especificamente a um antígeno. Foi mostrado que a função de ligação de antígeno de um anticorpo pode ser realizada pelos fragmentos de um anticorpo. Os

exemplos de fragmentos de ligação abrangidos dentro do termo "anticorpo" incluem (i) um fragmento Fab, um fragmento monovalente que consiste dos domínios  $V_L$ ,  $C_L$  e  $C_{H1}$ ; (ii) fragmentos  $F(ab)_2$  e  $F(ab')_2$ , fragmentos bivalentes que  
5 compreendem dois fragmentos Fab ligados por uma ponte de dissulfeto na região de dobradiça; (iii) um fragmento Fd que consiste essencialmente dos domínios  $V_H$  e  $CH1$ ; (iv) um fragmento Fv que consiste essencialmente dos domínios  $V_L$  e  $V_H$  de um único braço de um anticorpo, (v) um fragmento dAb  
10 (Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989)), que consiste essencialmente de um domínio  $V_H$ ; (vi) uma região isolada determinadora de complementaridade (CDR) e (vii) uma combinação de duas ou mais CDRs isoladas que podem ser opcionalmente unidas por um ligador sintético. Além disso,  
15 embora os dois domínios do fragmento Fv,  $V_L$  e  $V_H$ , sejam codificados por genes separados, estes podem ser unidos, usando métodos recombinantes, por um ligador sintético que possibilite que os mesmos sejam fabricados como uma única cadeia de proteína em que as regiões  $V_L$  e  $V_H$  se emparelham  
20 para formar moléculas monovalentes (conhecidas como anticorpos de cadeia única ou Fv de cadeia única (scFv), (ver por exemplo Bird et al, Science 242, 423-426 (1988) e Huston et al, PNAS USA 85, 5879-5883 (1988)). Tais anticorpos de cadeia única estão abrangidos dentro do termo  
25 anticorpo a menos que de outro modo estabelecido mencionado ou claramente indicado pelo contexto. Outras formas de anticorpos de cadeia única, tais como diacorpos são incluídos dentro do termo anticorpo. Embora tais fragmentos

sejam no geral incluídos dentro do significado de anticorpo, estes coletivamente e cada um independentemente são características únicas da presente invenção, exibindo propriedades biológicas e utilidades diferentes.

5       A presente invenção fornece uma composição farmacêutica que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo descrito na presente invenção. As composições farmacêuticas podem ser formuladas com carreadores farmaceuticamente aceitáveis ou diluentes assim como  
10 qualquer outros adjuvantes e excipientes conhecidos de acordo com técnicas convencionais tais como aquelas divulgadas em Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19ª Edição, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995.

15       Os carreadores farmaceuticamente aceitáveis ou diluentes assim como quaisquer outros adjuvantes e excipientes conhecidos devem ser adequados para o anticorpo da presente invenção e o modo escolhido de administração. A adequabilidade para carreadores e outros componentes de  
20 composições farmacêuticas é determinada pelo menor impacto significativo sobre as propriedades biológicas desejadas do anticorpo ou composição farmacêutica da presente invenção na ligação com o antígeno.

      Uma composição farmacêutica da presente invenção também  
25 pode incluir diluentes, sais, tampões, detergentes (por exemplo, um detergente não iônico, tal como Tween80), estabilizadores, estabilizadores (por exemplo, açúcares ou aminoácidos isentos de proteína), conservantes,

solubilizadores e/ou outros materiais adequados para a inclusão em uma composição farmacêutica.

Os níveis de dosagem reais dos ingredientes ativos nas composições farmacêuticas da presente invenção podem ser  
5 variados de modo a obter uma quantidade do ingrediente ativo que seja eficaz para se obter a resposta terapêutica desejada a um paciente, com composição e modo de administração particulares, sem ser tóxico para o paciente. O nível de dosagem selecionado dependerá de uma variedade de  
10 fatores farmacocinéticos incluindo a atividade das composições particulares da presente invenção utilizada, da via de administração, do tempo de administração, da taxa de excreção do composto particular que é utilizado, da duração do tratamento, outros medicamentos, compostos e/ou materiais  
15 usados em combinação com as composições particulares utilizadas, da idade, sexo, peso, condição, saúde geral e histórico médico anterior do paciente que é tratado e outros fatores bem conhecidos nas artes médicas.

A composição farmacêutica pode ser administrada por  
20 qualquer via ou modo adequados. As vias adequadas de administrar um composto da presente invenção *in vivo* e *in vitro* são bem conhecidas na técnica e podem ser selecionados por aqueles de habilidade comum na técnica.

A composição da presente invenção pode ser administrada  
25 por intermédio de qualquer via adequada, tal como uma via oral, nasal, inalável, tópica (incluindo bucal, transdérmica e sublingual), retal, vaginal e/ou parenteral.

Portanto, mais uma vez confirmamos que o anticorpo monoclonal anti-PBP2a de MRSA mostrou conferir proteção cruzada contra enterococos. Entretanto, as doses necessárias para conferir proteção foram superiores as empregadas contra MRSA em condições semelhantes. Isto se deve provavelmente a menor capacidade do anticorpo de reconhecer a PBP5 com a mesma eficácia que a PBP2a, para o qual foi desenvolvido.

Portanto, a presente invenção aqui descrita - anticorpos monoclonais anti-PBP2a, capazes de se ligar especificamente a PBP2a e seqüências homólogas, tem aplicabilidade em infecções causadas por bactérias que apresentem esta proteína ou similares (MRSA, MRSE e *Enterococcus* spp. e qualquer outro patógeno que venha a possuir uma proteína homóloga à PBP2a).

É importante enfatizar que uma vez que estas infecções são um problema de abrangência mundial e os ensaios foram realizados contra os principais clones epidêmicos de MRSA conhecidos, o produto da presente invenção possui aplicabilidade em qualquer lugar em que exista infecções por este patógeno.

A seguir são relacionados os documentos pertencentes ao estado da arte de conhecimento dos inventores e citados no presente relatório descritivo.

1. KOPP, BJ. NIX DE, ARMSTRONG EP. Clinical and economic analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. The Annals of Pharmacotherapy; 38:1377-82. 2004.

### REIVINDICAÇÕES

1. Anticorpo monoclonal isolado que se liga à proteína PBP2a caracterizado por compreender nas regiões variáveis da cadeia leve e da cadeia pesada sequências de amino ácidos selecionadas das sequências SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13 ou SEQ ID NO:14 ou sequências de amino ácidos correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

2. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 1 caracterizado por serem as regiões variáveis da cadeia leve e da cadeia pesada codificadas por sequências de DNA selecionadas das sequências SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16 ou SEQ ID NO:17 ou sequências de DNA correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

3. Anticorpo monoclonal isolado que se liga à proteína PBP5 de *Enterococcus* spp. caracterizado por compreender nas regiões variáveis da cadeia leve e da cadeia pesada sequências de amino ácidos selecionadas das sequências SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13 ou SEQ ID NO:14 ou sequências de amino ácidos correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

4. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 3 caracterizado por serem as regiões variáveis da cadeia leve e da cadeia pesada codificadas por sequências de DNA selecionadas das sequências SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16 ou SEQ ID NO:17 ou sequências de DNA correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

5. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 1 ou 3 caracterizado por apresentar na região variável da cadeia leve sequências de amino ácidos selecionadas das sequências SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 ou SEQ ID NO: 8 ou 5 sequências de amino ácidos correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

6. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 1 ou 3 caracterizado por apresentar na região variável da cadeia pesada sequências de amino ácidos selecionadas das 10 sequências SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 ou SEQ ID NO: 14 ou sequências de amino ácidos correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

7. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 1 ou 3 caracterizado por apresentar na região variável da 15 cadeia leve, uma região CDR1 contendo sequência SEQ ID NO: 6, uma região CDR2 contendo sequência SEQ ID NO: 7 e uma região CDR3 contendo sequência SEQ ID NO: 8 ou sequências de amino ácidos correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

20 8. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 1 ou 3 caracterizado por apresentar na região variável da cadeia pesada, uma região CDR1 contendo sequência SEQ ID NO: 12, uma região CDR2 contendo sequência SEQ ID NO: 13 e uma região CDR3 contendo sequência SEQ ID NO: 14 ou sequências 25 de amino ácidos correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

9. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 2 ou 4 caracterizado por serem as regiões variáveis da cadeia leve codificadas por sequências de DNA selecionadas das

seqüências SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10 ou SEQ ID NO:11 ou seqüências de DNA correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

10. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 2 ou 4 caracterizado por serem as regiões variáveis da cadeia pesada codificadas por seqüências de DNA selecionadas das seqüências SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16 ou SEQ ID NO:17 ou seqüências de DNA correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

10 11. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 2 ou 4 caracterizado por serem as regiões variáveis da cadeia leve; uma região CDR1 contendo seqüência SEQ ID NO: 9, uma região CDR2 contendo seqüência SEQ ID NO: 10 e uma região CDR3 contendo seqüência SEQ ID NO: 11 ou seqüências 15 de amino ácidos correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

12. Anticorpo monoclonal de acordo com a reivindicação 2 ou 4 caracterizado por serem as regiões variáveis da cadeia pesada, uma região CDR1 contendo seqüência SEQ ID NO: 20 15, uma região CDR2 contendo seqüência SEQ ID NO: 16 e uma região CDR3 contendo seqüência SEQ ID NO: 17 ou seqüências de amino ácidos correspondentes pelo menos 80% idênticas as mesmas.

13. Anticorpo monoclonal de acordo com as 25 reivindicações 1 a 12 caracterizado por ser do isotipo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD ou IgE.

14. Fragmento de anticorpo monoclonal que se liga à proteína PBP2a caracterizado por compreender as seqüências de amino

64

ácidos conforme descrito nas reivindicações 1 a 12 e ser funcionalmente equivalente.

15. Método de diagnóstico da resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos caracterizado por compreender a adição de um anticorpo monoclonal isolado ou suas frações funcionalmente equivalentes conforme definido em uma das reivindicações 1 a 14 puro ou em associação a outras substâncias a uma amostra bacteriana suspeita de conter a PBP2a ou proteínas homólogas a esta.

10 16. Composição farmacêutica para o tratamento ou prevenção de uma infecção por bactérias do Filo Firmicutes, caracterizado por compreender uma quantidade do anticorpo monoclonal isolado ou suas frações funcionalmente equivalentes conforme definido nas reivindicações 1 a 14 e  
15 um veículo farmacêutico, carreador ou excipiente.

17. Método para tratar ou prevenir uma infecção por bactérias do Filo Firmicutes caracterizado por compreender a administração a um paciente humano ou animal de uma quantidade de um anticorpo monoclonal isolado ou suas  
20 frações funcionalmente equivalentes conforme definido nas reivindicações 1 a 14.