



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112021006622-5 A2



(22) Data do Depósito: 08/10/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 20/07/2021

(54) Título: COMBINAÇÕES DE ANTICORPOS ANTI-STAPHYLOCOCCUS AUREUS

(51) Int. Cl.: C07K 16/12; C07K 16/22; A61P 31/04; A61K 39/395.

(30) Prioridade Unionista: 09/10/2018 US 62/743,490; 12/04/2019 US 62/833,297.

(71) Depositante(es): MEDIMMUNE, LLC.

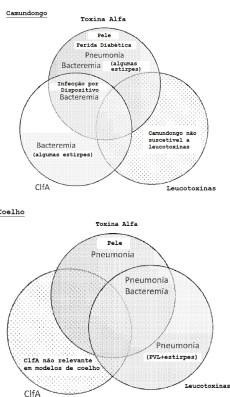
(72) Inventor(es): CHRISTINE TKACZYK; BRET SELLMAN; QUN DU; MELISSA DAMSCHRODER; TAYLOR COHEN.

(86) Pedido PCT: PCT US2019055143 de 08/10/2019

(87) Publicação PCT: WO 2020/076789 de 16/04/2020

(85) Data da Fase Nacional: 07/04/2021

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a combinações de anticorpos anti-Staphylococcus aureus incluindo combinações de anticorpos que se ligam à proteína da toxina alfa (AT), proteína do fator de aglutinação A (ClfA) e/ou pelo menos uma proteína da leucotoxina de S. aureus. Métodos de tratamento e prevenção de infecções compreendendo a administração de combinações de anticorpos são também proporcionados aqui.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para “**COMBINAÇÕES DE ANTICORPOS ANTI-STAPHYLOCOCCUS AUREUS**”.
ANTECEDENTES

[0001] As infecções causadas por patógenos bacterianos resistentes aos antimicrobianos (AMR) são uma ameaça crescente à saúde pública. A epidemia de AMR em curso foi alimentada, em parte, pela terapia empírica com antibióticos de amplo espectro. Isto levou à exploração de métodos específicos de patógenos, incluindo anticorpos monoclonais (mAbs), para prevenir ou tratar infecções bacterianas graves. Números anticorpos monoclonais estão correntemente em desenvolvimento para a prevenção ou tratamento de infecções bacterianas resistentes a antibióticos (ver, p. ex., DiGiandomenico, A. e B.R. Sellman, *Curr. Opin. Microbiol.*, 27: 78-85 (2015)). Tais estratégias de imunização passiva proporcionam uma resposta de imunoglobulina imediata e potente contra o patógeno alvo. Idealmente, o anticorpo monoclonal ou *cocktail* de anticorpos monoclonais proporciona múltiplos mecanismos de ação para neutralizar os principais mecanismos de virulência bacteriana e aumentar a resposta imunitária inata do hospedeiro, proporcionando assim a melhor oportunidade para sucesso clínico.

[0002] *Staphylococcus aureus* é um patógeno bacteriano que causa uma ampla gama de doenças incluindo infecções da pele e tecido mole, endocardite, osteomielite, pneumonia e bacteremia (Lowy, F.D., *N. Engl. J. Med.*, 339 (8): 520-32 (1998)). Estudos pré-clínicos indicam que abordagens baseadas em anticorpos monoclonais são promissoras para profilaxia e terapia adjuvante contra infecções por *S. aureus* (ver, p. ex., Hazenbos *et al.*, *PLoS Pathog.*, 9(10): e1003653. doi: 10.1371/journal.ppat.10036532013 (2013); Rouha, H., *MABs*, 7(1): 243-254 (2015); Foletti *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 425 (10): 1641-1654 (2013); Karazum *et al.*, *J Biol Chem.*, 287 (30): 25203-15 (2012); e Hua *et al.*, *Antimicrob Agents Chemother.*, 58 (2): 1108-17 (2014)). No entanto, o

tratamento com anticorpos individuais pode não ser suficiente para lidar com todas as infecções por *Staphylococcus aureus*. Assim permanece uma necessidade de composições e métodos para tratamento de infecções por *Staphylococcus aureus*, particularmente infecções que são resistentes aos antibióticos correntemente disponíveis e que proporcionam ampla cobertura de doenças e estirpes. A presente divulgação proporciona tais composições e métodos.

BREVE SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0003] Como demonstrado aqui, combinações de anticorpos que visam vários fatores de virulência bacteriana diferentes através de mecanismo de ação complementar podem proporcionar ampla cobertura de estirpes e ampla cobertura de doenças. Modelos animais exemplificativos suportando a amplitude de cobertura de estirpes e doenças englobada pelas combinações de anticorpos proporcionadas aqui são proporcionados na Figura 1.

[0004] São proporcionados aqui métodos de tratamento ou prevenção de uma infecção por *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) em um indivíduo compreendendo administração ao indivíduo de (a) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à toxina alfa (AT) de *S. aureus*, (b) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao fator de aglutinação A (ClfA) de *S. aureus* e (c) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*.

[0005] São proporcionados aqui também métodos de tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo compreendendo administração ao indivíduo de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* e (a) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à toxina alfa (AT) de *S. aureus* ou (b) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao fator de aglutinação A (ClfA)

de *S. aureus*.

[0006] São proporcionadas aqui também composições compreendendo (a) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus*, (b) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* e (c) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*.

[0007] São proporcionadas aqui também composições compreendendo um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* e (a) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* ou (b) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus*.

[0008] Em certos casos, a composição é para uso no tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo.

[0009] São proporcionados aqui também anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno que se ligam à AT de *S. aureus* para uso no tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo em combinação com um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* e um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*.

[0010] São proporcionados aqui também anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno que se ligam ao ClfA de *S. aureus* para uso no tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo em combinação com um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*.

[0011] São proporcionados aqui também anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno que se ligam a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* para uso no tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo em combinação com um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e/ou um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus*.

[0012] Em certos casos, a composição é usada na preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo.

[0013] São proporcionados aqui também usos de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* na preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo em combinação com um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* e um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*.

[0014] São proporcionados aqui também usos de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* na preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo em combinação com um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*.

[0015] São proporcionados aqui também usos de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* na preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo em combinação com um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e/ou um anticorpo ou seu fragmento

de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus*.

[0016] Em certos casos do método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* se liga ao mesmo epitopo da AT de *S. aureus* que um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:19 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:33. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* inibe competitivamente a ligação de um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:19 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:33 à AT de *S. aureus*. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma região de determinação da complementaridade (CDRs) 1 da cadeia pesada variável (VH) compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:1, uma CDR2 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:2, uma CDR3 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:3, uma CDR1 da cadeia leve variável (VL) compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:10, uma CDR2 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:11 e uma CDR3 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:12. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:19. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:33. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* com-

preende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:47. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:52. Em certos casos, um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende a CDR1 de VH, CDR2 de VH, CDR3 de VH, CDR1 de VL, CDR2 de VL e CDR3 de VL de MEDI4893. Em certos casos, as CDRs são as CDRs definidas por Kabat, as CDRs definidas por Chothia ou as CDRs definidas por AbM. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende ainda uma região constante da cadeia pesada. Em certos casos, a região constante da cadeia pesada é selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia pesada IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂ de imunoglobulina humana. Em certos casos, a região constante da cadeia pesada é uma região constante de IgG₁ humana. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende ainda uma região constante da cadeia leve. Em certos casos, a região constante da cadeia leve é selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia leve IgG_κ e IgG_λ de imunoglobulina humana. Em certos casos, a região constante da cadeia leve é uma região constante da cadeia leve de IgG_κ humana. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* é um anticorpo IgG ou seu fragmento de ligação ao antígeno. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma região Fc que foi manipulada para melhorar a meia-vida. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma região Fc com uma mutação YTE. Em certos casos, o anticorpo ou fra-

gmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* é um anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* é um anticorpo de comprimento total. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno compreende um Fab, Fab', F(ab')₂, Fv de cadeia simples (scFv), Fv ligado por dissulfeto, intracorpo, IgGΔCH₂, minicorpo, F(ab')₃, tetracorpo, triacorpo, diacorpo, DVD-Ig, Fcab, mAb², (scFv)₂ ou scFv-Fc. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* tem uma afinidade de 80-100 pM para a AT de *S. aureus*.

[0017] Em certos casos do método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* se liga ao mesmo epitopo do ClfA de *S. aureus* que um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:20 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:34. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* inibe competitivamente a ligação de um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:20 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:34 ao ClfA de *S. aureus*. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende uma CDR1 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:4, uma CDR2 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:5, uma CDR3 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:6, uma CDR1 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:13, uma CDR2 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:14 e uma CDR3 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:15.

Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:20. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:34. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende um domínio constante da cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de CSYHLC (SEQ ID NO:55). Em certos casos, o domínio constante da cadeia pesada compreende a sequência de aminoácidos de MHEACSYHLCQKSLSL (SEQ ID NO:56). Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:49. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:53. Em certos casos, um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende a CDR1 de VH, CDR2 de VH, CDR3 de VH, CDR1 de VL, CDR2 de VL e CDR3 de VL de SAR114-N3Y. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende a CDR1 de VH, CDR2 de VH, CDR3 de VH, CDR1 de VL, CDR2 de VL e CDR3 de VL de 11H10, SAR72, SAR80, SAR113, SAR132, SAR352, SAR372, SAR510, SAR547, SAS1, SAS19 ou SAS203. Em certos casos, as CDRs são as CDRs definidas por Kabat, as CDRs definidas por Chothia ou as CDRs definidas por AbM. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende uma VH e uma VL, em que a VH compreende a sequência de aminoácidos estabelecida em qualquer uma de SEQ ID NOs:21-31 e 68. Em certos casos, o anticorpo ou seu

fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende uma VH e uma VL, em que a VL compreende a sequência de aminoácidos estabelecida em qualquer uma de SEQ ID NOs: 35-45 e 69. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende sequências de VH e VL compreendendo as sequências de aminoácidos estabelecidas em (a) SEQ ID NOs:21 e 35, respectivamente, (b) SEQ ID NOs:22 e 36, respectivamente, (c) SEQ ID NOs:23 e 37, respectivamente, (d) SEQ ID NOs:24 e 38, respectivamente, (e) SEQ ID NOs:25 e 39, respectivamente, (f) SEQ ID NOs:26 e 40, respectivamente, (g) SEQ ID NOs:27 e 41, respectivamente, (h) SEQ ID NOs:28 e 42, respectivamente, (i) SEQ ID NOs:29 e 43, respectivamente, (j) SEQ ID NOs:30 e 44, respectivamente, (k) SEQ ID NOs:31 e 45, respectivamente, ou (l) SEQ ID NOs: 68 e 69, respectivamente. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende ainda uma região constante da cadeia pesada. Em certos casos, a região constante da cadeia pesada é selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia pesada IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂ de imunoglobulina humana. Em certos casos, a região constante da cadeia pesada é uma região constante de IgG₁ humana. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende ainda uma região constante da cadeia leve. Em certos casos, a região constante da cadeia leve é selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia leve IgG_k e IgG_λ de imunoglobulina humana. Em certos casos, a região constante da cadeia leve é uma região constante da cadeia leve de IgG_k humana. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende uma mutação que prolonga a meia-vida em relação ao mesmo anticorpo sem a mutação em camundongos com FcRn humano. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento

de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende uma mutação que prolonga a meia-vida em relação ao mesmo anticorpo sem a mutação, e em que a mutação não inibe a atividade de OPK em relação ao mesmo anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno a mutação. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* é um anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* é um anticorpo de comprimento total. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* é um fragmento de ligação ao antígeno. Em certos casos, o fragmento de ligação ao antígeno compreende um Fab, Fab', F(ab')₂, Fv de cadeia simples (scFv), Fv ligado por dissulfeto, intracorpo, IgGΔCH₂, minicorpo, F(ab')₃, tetracorpo, triacorpo, diacorpo, DVD-Ig, Fcab, mAb², (scFv)₂ ou scFv-Fc. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* tem IC50s para ClfA001, ClfA002 e ClfA004 em um ensaio de inibição da ligação de fibrinogênio que estão dentro de 2 µg/mL umas das outras. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* tem IC50s para ClfA001, ClfA002 e ClfA004 em um ensaio de inibição da ligação de fibrinogênio que estão todas entre 1 µg/mL e 5 µg/mL. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* tem afinidades de ligação (K_D) para ClfA001, ClfA002 e ClfA004 que estão todas entre 200 e 350 pM. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* tem afinidades de ligação (K_D) de menos do que 1 nM para todos os genótipos de ClfA. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* tem uma pureza de monômero que diminui por não mais do que 5% após exposição do anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno a

luz branca convencional a 2 kLux/h a 23 °C durante 14 dias.

[0018] Em certos casos do método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* se liga a LukF, LukD e/ou HlgB, e/ou em que o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno neutraliza LukF, LukD e/ou HlgB. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* se liga a LukF, LukD e HlgB, e/ou em que o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno neutraliza LukF, LukD e HlgB. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* se liga ao mesmo epitopo da leucotoxina de *S. aureus* que um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:32 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:46. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* inibe competitivamente a ligação de um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:32 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:46 à leucotoxina de *S. aureus*. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende uma VHCDR1 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:7, uma CDR2 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:8, uma CDR3 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:9, uma CDR1 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:16, uma CDR2 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:17 e uma CDR3 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:18. Em certos casos, o anticorpo ou seu

fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:32. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:46. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:50. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:54. Em certos casos, um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende a CDR1 de VH, CDR2 de VH, CDR3 de VH, CDR1 de VL, CDR2 de VL e CDR3 de VL de SAN481-SYT. Em certos casos, as CDRs são as CDRs definidas por Kabat, as CDRs definidas por Chothia ou as CDRs definidas por AbM. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende ainda uma região constante da cadeia pesada. Em certos casos, a região constante da cadeia pesada é selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia pesada IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂ de imunoglobulina humana. Em certos casos, a região constante da cadeia pesada é uma região constante de IgG₁ humana. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga pelo menos a uma leucotoxina de *S. aureus* compreende ainda uma região constante da cadeia leve. Em certos casos, a região constante da cadeia leve é selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia leve IgG_k e IgG_λ de imunoglobulina humana. Em certos casos, a região constante da cadeia leve é uma região constante da cadeia leve

de IgGk humana. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* é um anticorpo IgG ou seu fragmento de ligação ao antígeno. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende uma região Fc que foi manipulada para melhorar a meia-vida. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende uma região Fc com uma mutação YTE. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* é um anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* é um anticorpo de comprimento total. Em certos casos, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* é um fragmento de ligação ao antígeno. Em certos casos, o fragmento de ligação ao antígeno compreende um Fab, Fab', F(ab')₂, Fv de cadeia simples (scFv), Fv ligado por dissulfeto, intracorpo, IgGΔCH₂, minicorpo, F(ab')₃, tetracorpo, triacorpo, diacorpo, DVD-Ig, Fcab, mAb², (scFv)₂ ou scFv-Fc. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* tem uma afinidade de menos do que 75 pM para LukF, LukD e HlgB de *S. aureus*. Em certos casos, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* afinidades de ligação similares para LukF, LukD e HlgB.

[0019] Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é sépsis. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso pro-

porcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é bacteremia. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é pneumonia. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é pneumonia em ICU. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é uma infecção da pele ou tecido mole (SSTI). Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é uma infecção diabética dos membros inferiores. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é uma úlcera do pé diabético (DFU). Em certos casos, a DFU não está infectada. Em certos casos, a DFU está infectada. Em certos casos, a DFU é uma DFU de grau 1, 2 ou 3. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é uma infecção dos ossos ou articulações. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é uma infecção das articulações, uma infecção do dispositivo, uma infecção das feridas, uma infecção do local cirúrgico ou osteomielite.

[0020] Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o indivíduo é um indivíduo cirúrgico.

[0021] Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* compreende *S. aureus* resistente a antibióticos.

[0022] Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou

seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o indivíduo tem diabetes. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o indivíduo é humano.

[0023] Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* compreende inibição da aglutinação de *S. aureus*, neutralização de toxinas, indução da opsonofagocitose, inibição da ligação de fibrinogênio de *S. aureus*, inibição da aglutinação de *S. aureus*, inibição da formação de lesões tromboembólicas, inibição da sépsis associada a *S. aureus* ou qualquer combinação dos anteriores.

[0024] Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* são administrados na mesma composição farmacêutica. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* são administrados nas composições farmacêuticas separadas. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* são administrados na mesma composição farmacêutica. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao

antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* são administrados nas composições farmacêuticas separadas. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* são administrados na mesma composição farmacêutica. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* são administrados nas composições farmacêuticas separadas. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, as composições farmacêuticas separadas são administradas simultaneamente. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, as composições farmacêuticas separadas são administradas sequencialmente. Em certos casos de um método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus*, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* são administrados na mesma composição farmacêutica.

[0025] São proporcionados aqui também métodos de tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo com diabetes compreendendo administração ao indivíduo de um anticorpo ou seu

fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus*.

[0026] São proporcionados aqui também anticorpos ou seus fragmentos de ligação ao antígeno que se ligam à AT de *S. aureus* para uso no tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo com diabetes.

[0027] São proporcionados também aqui usos de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se ligam à AT de *S. aureus* na preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo com diabetes.

[0028] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* se liga ao mesmo epitopo da AT de *S. aureus* que um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:19 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:33.

[0029] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* inibe competitivamente a ligação de um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:19 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:33 à AT de *S. aureus*.

[0030] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma CDR1 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:1, uma CDR2 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:2, uma CDR3 de VH compreendendo a

sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:3, uma CDR1 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:10, uma CDR2 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:11 e uma CDR3 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:12.

[0031] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:19.

[0032] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:33.

[0033] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:47.

[0034] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:52.

[0035] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende a CDR1 de VH, CDR2 de VH, CDR3 de VH, CDR1 de VL, CDR2 de VL e CDR3 de VL de MEDI4893. Em certos casos, as CDRs

são as CDRs definidas por Kabat, as CDRs definidas por Chothia ou as CDRs definidas por AbM.

[0036] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende ainda uma região constante da cadeia pesada. Em certos casos, a região constante da cadeia pesada é selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia pesada IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂ de imunoglobulina humana. Em certos casos, a região constante da cadeia pesada é uma região constante de IgG₁ humana.

[0037] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende ainda uma região constante da cadeia leve. Em certos casos, a região constante da cadeia leve é selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia leve IgGκ e IgGλ de imunoglobulina humana. Em certos casos, a região constante da cadeia leve é uma região constante da cadeia leve de IgGκ humana.

[0038] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* é um anticorpo IgG ou seu fragmento de ligação ao antígeno.

[0039] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma região Fc que foi manipulada para melhorar a meia-vida.

[0040] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma região Fc com uma mutação YTE.

[0041] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* é um anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno.

[0042] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* é um anticorpo de comprimento total.

[0043] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* é um fragmento de ligação ao antígeno. Em certos casos, o fragmento de ligação ao antígeno compreende um Fab, Fab', F(ab')₂, Fv de cadeia simples (scFv), Fv ligado por dissulfeto, intracorpo, IgGΔCH₂, minicorpo, F(ab')₃, tetracorpo, triacorpo, diacorpo, DVD-Ig, Fcab, mAb², (scFv)₂ ou scFv-Fc.

[0044] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* tem uma afinidade de 80-100 pM para a AT de *S. aureus*.

[0045] Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é sépsis. Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é bacteremia. Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é pneumonia. Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é pneumonia em ICU. Em certos

casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é uma SSTI. Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é uma infecção diabética dos membros inferiores. Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é uma DFU. Em certos casos, a DFU não está infectada. Em certos casos, a DFU está infectada. Em certos casos, a DFU é uma DFU de grau 1, 2 ou 3. Em certos casos de um método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uso proporcionado aqui, a infecção por *S. aureus* é uma infecção dos ossos ou articulações.

BREVE DESCRIÇÃO DAS VÁRIAS VISTAS DO(S) DESENHO(S)

[0046] A Figura 1 é um esquema mostrando que uma gama de modelos animais suporta o uso da combinação de anticorpos dirigidos contra a toxina alfa (AT), fator de aglutinação A (ClfA) e leucotoxinas para alcançar ampla cobertura de estirpes e doenças.

[0047] A Figura 2 é um gráfico mostrando a eficácia da combinação de anticorpos dirigidos contra AT, ClfA e leucotoxinas (MEDI6389) na inibição da hemólise de glóbulos vermelhos (RBC) em comparação com a eficácia de um anticorpo dirigido contra AT (MEDI4893*) sozinho e a eficácia de uma combinação de anticorpos dirigidos contra ClfA (SAR114) e leucotoxinas (SAN481-SYT*). (Ver Exemplo 1.)

[0048] A Figura 3 é um gráfico mostrando a eficácia da combinação de anticorpos dirigidos contra AT, ClfA e leucotoxinas (MEDI6389) na manutenção da viabilidade dos monócitos em comparação com a eficácia de um anticorpo dirigido contra leucotoxinas (SAN481-SYT*) sozinho e a eficácia de uma combinação de anticorpos dirigidos contra AT (MEDI4893*) e ClfA (SAR114). (Ver Exemplo 1.)

[0049] A Figura 4 é um gráfico mostrando a eficácia da combinação

de anticorpos dirigidos contra AT, ClfA e leucotoxinas (MEDI6389) na inibição da ligação de fibrinogênio (Fg) em comparação com a eficácia de um anticorpo dirigido contra ClfA (SAR114) sozinho e a eficácia de uma combinação de anticorpos dirigidos contra AT (MEDI4893*) e leucotoxinas (SAN481-SYT*). (Ver Exemplo 1.)

[0050] A Figura 5 proporciona um gráfico e imagens mostrando que a combinação de SAN481-SYT* e MEDI4893* é superior à atividade de SAN481-SYT* ou MEDI4893* sozinho em um modelo de dermonecrose com um isolado de ferida de *S. aureus*. (Ver Exemplo 2.)

[0051] A Figura 6 proporciona gráficos mostrando que a neutralização de AT, ClfA e leucotoxinas é necessária para proteção no modelo de bacteremia de coelho. (Ver Exemplo 3.)

[0052] A Figura 7 proporciona gráficos comparando a eficácia da combinação de anticorpos dirigidos contra AT, ClfA e leucotoxinas (MEDI6389) contra duas infecções bacterianas diferentes da corrente sanguínea: HA-MRSA NRS382 (painel superior) e CA-MRSA SF8300 (painel inferior). (Ver Exemplo 4.)

[0053] A Figura 8 proporciona um gráfico e imagens mostrando que uma infecção mista de *S. aureus* (SA), *Pseudomonas aeruginosa* (PA) e *Streptococcus pyogenes* (SP) resultou no fechamento retardado de lesões da pele em um modelo de dermonecrose de camundongo diabético em comparação com uma infecção por SA sozinha. As imagens mostram lesões no Dia 43 pós-desafio intradérmico. (Ver Exemplo 5.)

[0054] A Figura 9 proporciona gráficos e imagens mostrando que a combinação de anticorpos dirigidos contra AT, ClfA e leucotoxinas (MEDI6389) melhora a cicatrização de feridas resultando de infecções por bactérias mistas. (Ver Exemplo 5.)

[0055] A Figura 10 proporciona um alinhamento de sequências de HIgB (SEQ ID NO:59), LukF (SEQ ID NO:60) e LukD (SEQ ID NO:61).

[0056] As Figuras 11A-G mostram que níveis elevados de glucose

se correlacionam com infecções mais graves por *S. aureus*. (A e B) Após infecção com *S. aureus*, os camundongos *db/db* (A) e STZ (B) diabéticos tinham mortalidade aumentada em comparação com controles não diabéticos. (C) Após infecção com *S. aureus*, os camundongos *db/db* diabéticos tinham níveis similares de *S. aureus* em seus rins como os controles não diabéticos. (D) Após infecção com *S. aureus*, os camundongos STZ diabéticos tinham níveis similares de *S. aureus* em seus rins como os controles não diabéticos. (E, F e G) O tratamento com Rosiglitazona durante 1 semana antes da infecção com *S. aureus* reduziu a glucose circulante (E) e aumentou a sobrevivência (F), mas não afetou a carga bacteriana no rim (G). (Ver Exemplo 7.)

[0057] As Figuras 12A-D mostram que a infecção sistêmica do hospedeiro diabético leva a um aumento dependente da AT nos NET circulantes. (A) Após infecção com *S. aureus*, o ELISA detectou NET séricos aumentados em camundongos diabéticos em comparação com controles não diabéticos. (B) A neutralização da toxina alfa (AT) de *S. aureus* com o anticorpo monoclonal antitoxina alfa MEDI4893* reduziu significativamente o número de complexos NE-DNA no soro 48 horas pós-infecção em camundongos diabéticos. (C) Após infecção com *S. aureus*, a transferência de Western detectou Histona H3 citrinulada (H3cit) em camundongos diabéticos em comparação com controles não diabéticos. (D) A neutralização da AT de *S. aureus* aumentou a sobrevivência de camundongos diabéticos infectados com *S. aureus*. (Ver Exemplo 8.)

[0058] As Figuras 13A-D mostram que os camundongos *db/db* diabéticos têm neutrófilos de baixa densidade (LDN) aumentados. (A) Após infecção com *S. aureus*, a quantidade de LDN no sangue de camundongos *db/db* diabéticos infectados foi significativamente aumentada em comparação com camundongos *db/db* não infectados ou controles não diabéticos. (B) O tratamento com Rosiglitazona durante 1 semana antes da infecção com *S. aureus* reduziu os LDN 48 horas pós-infecção. (C e

D) A neutralização da AT de *S. aureus* antes da infecção reduziu os LDN (C) mas não afetou o número global de neutrófilos (D) em camundongos *db/db* diabéticos. (Ver Exemplo 9.)

[0059] A Figura 14 mostra que, após infecção com *S. aureus*, os camundongos STZ diabéticos tinham LDN de neutrófilos de baixa densidade aumentados. (Ver Exemplo 9.)

[0060] As Figuras 15A-D mostram que a entrega de um anticorpo neutralizante de TGF β antes da infecção é protetora em camundongos diabéticos (A) TGF β aumentou significativamente o número de LDN no sangue de *db/db* diabéticos, mas não no sangue de controle não diabético. (B e C) A entrega de um anticorpo neutralizante de TGF β proporcionada antes da infecção por *S. aureus* reduziu os LDN no sangue (B), mas não afetou a quantidade de bactérias no rim (C). (D) A entrega de um anticorpo neutralizante de TGF β proporcionada antes da infecção aumentou a sobrevivência de camundongos *db/db* diabéticos. (Ver Exemplo 10.)

[0061] As FIGURAS 16A-E mostram que o bloqueio da via $\alpha V\beta 6/8$ antes da infecção é protetor em camundongos diabéticos. (A) Os monócitos inflamatórios positivos para $\beta 8$ e as células dendríticas (DC) aumentaram no fígado de camundongos *db/db* diabéticos, não camundongos C57BKS, após infecção. (B) A expressão da integrina aumentou na superfície dos monócitos, e o número global de DC (não a densidade de $\beta 8$ nas DC) aumentou. (C) A neutralização de $\alpha V\beta 6/8$ antes da infecção diminuiu os LDN na corrente sanguínea em comparação com a administração de um anticorpo anti- $\alpha V\beta 6$ ou um anticorpo de controle (c-IgG). (D) A neutralização de $\alpha V\beta 6/8$ antes da infecção não afetou a quantidade de bactérias no rim. (E) A neutralização de $\alpha V\beta 6/8$ antes da infecção aumentou a sobrevivência em comparação com a administração de um anticorpo de controle (c-IgG). (Ver Exemplo 10.)

[0062] As FIGURAS 17A-C mostram que a AT influencia a ativação

de TGF β independentemente da expressão de α V β 8 em células imunitárias inatas. (A) Os níveis de pSMAD foram mais elevados nos fígados de camundongos diabéticos infectados em comparação com camundongos diabéticos virgens e camundongos não diabéticos infectados. (B) A neutralização da AT reduziu significativamente os níveis de pSMAD no fígado. (C) A neutralização da AT não alterou os números de células imunitárias inatas expressando α V β 8. (Ver Exemplo 11.)

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[0063] A presente divulgação proporciona combinações de anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpos monoclonais e seus fragmentos de ligação ao antígeno) que se ligam à toxina alfa (AT), fator de aglutinação A (ClfA) e pelo menos uma leucotoxina de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). A presente divulgação proporciona também métodos de uso de tais combinações, por exemplo, no tratamento ou prevenção de infecções por *S. aureus*.

I. Definições

[0064] Como usado aqui, o termo “toxina alfa” ou “AT” se refere a polipeptídeos de toxina alfa bacteriana incluindo, mas não se limitando a, polipeptídeos de toxina alfa nativos e isoformas de polipeptídeos de toxina alfa. “Toxina alfa” engloba polipeptídeos de toxina alfa não processados, de comprimento total bem como formas de polipeptídeos de toxina alfa que resultam do processamento dentro da célula. Como usado aqui, o termo “toxina alfa de *S. aureus*” se refere a um polipeptídeo compreendendo a sequência de aminoácidos de adsdiniktgttdigsnttvktgdlvtydkengmhkkvfysfiddknhnkkllvirtkgti-agqyrvyseeganksglawpsafkvqlqldnevaqisdyypnsidtkkeymstlttygfngnvtg ddtgkiggliganvsightlkvypdfktilsptdkkvvgwkvifnmvqnqngwpydrdswnpvygnqlfmktrngsmkaadnfdpnkassllssgfspdfatvitmdrkaskqqtnidviyervrd dyqlhwtstnwkgntkdkwtdrsserykidwekeemtn (SEQ ID NO:57). O mu-

tante H35L da toxina alfa de *S. aureus* tem a sequência adsdiniktgttdigsnttvktgdlvtydkengmlkkvfysfiddknhnkllvirtkgti-agqyrvyseeganksglawpsafkvqlqldnevaqisdyyprnsidtkkeymstltgyfngnvtg ddtgkiggliganvsightlkyvqpdfktilspdkkvgwkvifnmvqnqngwpydrdswnpvygnqlfmktrngsmkaadnfldpnkassllssgfspdfatvitmdrkaskqqtnidviyervrdyqlhwtstnwkgntkdkwtdrsserykidwekeemtn (SEQ ID NO:58).

[0065] Um “polinucleotídeo de toxina alfa”, “nucleotídeo de toxina alfa” ou “ácido nucleico de toxina alfa” se refere a um polinucleotídeo codificando toxina alfa.

[0066] Como usado aqui, o termo “fator de aglutinação A” ou “ClfA” se refere a polipeptídeos de fator de aglutinação A bacteriano incluindo, mas não se limitando a, polipeptídeos de fator de aglutinação A nativos e isoformas de polipeptídeos de fator de aglutinação A. “Fator de aglutinação A” engloba polipeptídeos de fator de aglutinação A não processados, de comprimento total bem como formas de polipeptídeos de fator de aglutinação A que resultam do processamento dentro da célula. Um “polinucleotídeo de fator de aglutinação A”, “nucleotídeo de fator de aglutinação A” ou “ácido nucleico de fator de aglutinação A” se refere a um polinucleotídeo codificando toxina alfa.

[0067] Como usado aqui, o termo “leucotoxina” se refere a polipeptídeos de leucotoxina bacteriana incluindo, mas não se limitando a, polipeptídeos de leucotoxina nativos e isoformas de polipeptídeos de leucotoxina. “Leucotoxina” engloba um polipeptídeo de leucotoxina não processado, de comprimento total bem como formas de polipeptídeos de leucotoxina que resultam do processamento dentro da célula. As leucotoxinas incluem LukSF, leucotoxina ED (LukED), HlgAB, HlgCB e leucotoxina AB (LukAB, também conhecida como LukGH). Como usado aqui, o termo “HlgB de *S. aureus*” se refere a um polipeptídeo compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:59. Como usado

aqui, o termo “LukF de *S. aureus*” se refere a um polipeptídeo compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:60. Como usado aqui, o termo “LukD de *S. aureus*” se refere a um polipeptídeo compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:61. Como usado aqui, o termo “HlgB de *S. aureus*” se refere a um polipeptídeo compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:59. (Veja a Figura 10.) Um “polinucleotídeo de leucotoxina”, “nucleotídeo de leucotoxina” ou “ácido nucleico de leucotoxina” se refere a um polinucleotídeo codificando uma leucotoxina.

[0068] O termo “anticorpo” significa uma molécula de imunoglobulina que reconhece e se liga especificamente a um alvo, tal como uma proteína, polipeptídeo, peptídeo, carboidrato, polinucleotídeo, lipídeo ou combinações dos anteriores através de pelo menos um local de reconhecimento do antígeno dentro da região variável da molécula de imunoglobulina. Como usado aqui, o termo “anticorpo” engloba anticorpos policlonais intatos, anticorpos monoclonais intatos, anticorpos quiméricos, anticorpos humanizados, anticorpos humanos, proteínas de fusão compreendendo um anticorpo e qualquer outra molécula de imunoglobulina modificada desde que os anticorpos exibam a atividade biológica desejada. Um anticorpo pode ser de qualquer uma das cinco principais classes de imunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, ou suas subclasses (isotipos) (p. ex., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2), com base na identidade dos seus domínios constantes de cadeia pesada referidos como alfa, delta, épsilon, gama e mu, respectivamente. As diferentes classes de imunoglobulinas têm estruturas de subunidades e configurações tridimensionais diferentes e bem conhecidas. Os anticorpos podem ser nus ou conjugados com outras moléculas tais como toxinas, radioisótopos, *etc.*

[0069] O termo “anticorpos monoclonais”, como usado aqui, se refere a anticorpos que são produzidos por um clone único de células B e

se ligam ao mesmo epitopo. Em contraste, o termo “anticorpos policlonais” se refere a uma população de anticorpos que são produzidos por diferentes células B e se ligam a diferentes epitopos do mesmo antígeno.

[0070] O termo “fragmento de anticorpo” se refere a uma porção de um anticorpo intato. Um “fragmento de ligação ao antígeno”, “domínio de ligação ao antígeno” ou “região de ligação ao antígeno”, se refere a uma porção de um anticorpo intato que se liga a um antígeno. Um fragmento de ligação ao antígeno pode conter as regiões determinantes antigênicas de um anticorpo intato (p. ex., as regiões determinantes de complementaridade (CDRs)). Exemplos de fragmentos de anticorpos de ligação ao antígeno incluem, mas não estão limitados a, fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ e Fv, anticorpos lineares e anticorpos de cadeia simples. Um fragmento de ligação ao antígeno de um anticorpo pode ser derivado de qualquer espécie animal, tais como roedores (p. ex., camundongo, rato ou *hamster*) e humanos ou pode ser artificialmente produzido.

[0071] Um anticorpo inteiro consiste tipicamente em quatro polipeptídeos: duas cópias idênticas de um polipeptídeo de cadeia pesada (H) e duas cópias idênticas de um polipeptídeo de cadeia leve (L). Cada uma das cadeias pesadas contém uma região variável (VH) N-terminal e três regiões constantes (CH1, CH2 e CH3) C-terminais, e cada cadeia leve contém uma região variável (VL) N-terminal e uma região constante (CL) C-terminal. As regiões variáveis de cada par de cadeias leves e pesadas formam o local de ligação ao antígeno de um anticorpo. As regiões VH e VL têm a mesma estrutura geral, com cada região compreendendo quatro regiões estruturais, cujas sequências são relativamente conservadas. O termo “região estrutural”, como usado aqui, se refere às sequências de aminoácidos relativamente conservadas dentro da região variável que estão localizadas entre as regiões hipervariáveis

ou determinantes da complementaridade (CDRs). Existem quatro regiões estruturais em cada domínio variável, que são designadas FR1, FR2, FR3 e FR4. As regiões estruturais formam as folhas β que proporcionam a estrutura estrutural da região variável (ver, p. ex., C.A. Janeway *et al.* (eds.), *Immunobiology*, 5ª Ed., Garland Publishing, Nova Iorque, NY (2001)). As três CDRs, conhecidas como CDR1, CDR2 e CDR3, formam a “região hipervariável” de um anticorpo, que é responsável pela ligação ao antígeno.

[0072] Os termos “VL” e “domínio VL” são usados indistintamente para se referirem à região variável da cadeia leve de um anticorpo.

[0073] Os termos “VH” e “domínio VH” são usados indistintamente para se referirem à região variável da cadeia pesada de um anticorpo.

[0074] O termo “numeração de Kabat” e termos similares são reconhecidos na técnica e se referem a um sistema de numeração de resíduos de aminoácidos nas regiões variáveis da cadeia pesada e leve de um anticorpo ou um seu fragmento de ligação ao antígeno. Em certos aspectos, as CDRs podem ser determinadas de acordo com o sistema de numeração de Kabat (ver, p. ex., Kabat EA & Wu TT (1971) *Ann NY Acad Sci* 190: 382-391 e Kabat EA *et al.*, (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Quinta Edição, U.S. Department of Health and Human Services, Publicação NIH N.º 91-3242). Usando o sistema de numeração Kabat, as CDRs em uma molécula de cadeia pesada do anticorpo estão tipicamente presentes nas posições de aminoácidos 31 a 35, que podem incluir opcionalmente um ou dois aminoácidos adicionais, após 35 (referido no esquema de numeração Kabat como 35A e 35B) (CDR1), posições de aminoácidos 50 a 65 (CDR2) e posições de aminoácidos 95 a 102 (CDR3). Usando o sistema de numeração de Kabat, as CDRs em uma molécula de cadeia leve de anticorpo estão tipicamente presentes nas posições de aminoácidos 24 a 34 (CDR1), posições de aminoácidos 50 a 56 (CDR2) e posições de aminoácidos 89

a 97 (CDR3). Em uma modalidade específica, as CDRs dos anticorpos descritos aqui foram determinadas de acordo com o esquema de numeração de Kabat.

[0075] Chothia se refere ao invés à localização de alças estruturais (Chothia e Lesk, *J. Mol. Biol.* 196: 901-917 (1987)). A extremidade da alça CDRs-H1 de Chothia quando numerada usando a convenção de numeração de Kabat varia entre H32 e H34 dependendo do comprimento da alça (isto é porque o esquema de numeração de Kabat coloca as inserções em H35A e H35B; se nem 35A nem 35B estiverem presentes, a alça termina em 32; se somente 35A estiver presente, a alça termina em 33; se tanto 35A como 35B estiverem presentes, a alça termina em 34). As regiões hipervariáveis de AbM representam um compromisso entre as CDRs de Kabat e alças estruturais de Chothia e são usadas pelo programa de modelação de anticorpos AbM da Oxford Molecular.

Alça	Kabat	AbM	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B (Numeração de Kabat)	H26-H32..34
H1	H31-H35	H26-H35 (Numeração de Chothia)	H26-H32
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102

[0076] Como usado aqui, o termo “região constante” ou “domínio constante” são indistintos e têm seu significado comum na técnica. A região constante é uma porção de anticorpo, p. ex., uma porção terminal de carboxila de uma cadeia leve e/ou pesada que não está diretamente envolvida na ligação de um anticorpo ao antígeno mas que pode exibir várias funções efetoras, tais como interação com o receptor Fc. A região

constante de uma molécula de imunoglobulina tem geralmente uma sequência de aminoácidos mais conservada em relação a um domínio variável de imunoglobulina.

[0077] Como usado aqui, o termo “cadeia pesada” quando usado em referência a um anticorpo pode se referir a qualquer tipo distinto, p. ex., alfa (α), delta (δ), épsilon (ϵ), gama (γ) e mu (μ), com base na sequência de aminoácidos do domínio constante, que dá origem às classes de anticorpos IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, respectivamente, incluindo subclasses de IgG, p. ex., IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄. As sequências de aminoácidos da cadeia pesada são bem conhecidas na técnica. Em modalidades específicas, a cadeia pesada é uma cadeia pesada humana.

[0078] Como usado aqui, o termo “cadeia leve” quando usado em referência a um anticorpo pode se referir a qualquer tipo distinto, p. ex., capa (κ) ou lambda (λ) com base na sequência de aminoácidos dos domínios constantes. As sequências de aminoácidos da cadeia leve são bem conhecidas na técnica. Em modalidades específicas, a cadeia leve é uma cadeia pesada humana.

[0079] Um anticorpo “quimérico” se refere a um anticorpo ou seu fragmento compreendendo regiões tanto humanas como não humanas. Um anticorpo “humanizado” é um anticorpo compreendendo um suporte de anticorpo humano e pelo menos uma CDRs obtida ou derivada de um anticorpo não humano. Os anticorpos não humanos incluem anticorpos isolados de qualquer animal não humano, tal como, por exemplo, um roedor (p. ex., um camundongo ou rato). Um anticorpo humanizado pode compreender uma, duas ou três CDRs obtidas ou derivadas de um anticorpo não humano. Um anticorpo totalmente humano não contém quaisquer resíduos de aminoácidos obtidos ou derivados de um animal não humano. Será apreciado que os anticorpos totalmente humanos e humanizados carregam um risco menor de induzir respostas imunitárias em humanos do que os anticorpos de camundongo ou quiméricos (ver,

p. ex., Harding *et al.*, *mAbs*, 2 (3): 256-26 (2010)).

[0080] Como usado aqui, um “epitopo” é um termo na técnica e se refere a uma região localizada de um antígeno à qual um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno pode se ligar especificamente. Um epitopo pode ser, por exemplo, aminoácidos contíguos de um polipeptídeo (epitopo linear ou contíguo) ou um epitopo pode, por exemplo, vir em conjunto de duas ou mais regiões não contíguas de um polipeptídeo ou polipeptídeos (epitopo conformacional, não linear, descontínuo ou não contíguo). Em certas modalidades, o epitopo ao qual um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno se liga pode ser determinado por, p. ex., espectroscopia de RMN, estudos de cristalografia de difração de raios-X, ensaios ELISA, troca de hidrogênio/deutério acoplada com espectrometria de massa (p. ex., cromatografia líquida, espectrometria de massa por eletropulverização), ensaios de varredura de oligopeptídeos à base de matrizes e/ou mapeamento de mutagênese (p. ex., mapeamento de sítio-mutagênese). Para cristalografia de raios-X, a cristalização pode ser alcançada usando qualquer um dos métodos conhecidos na técnica (p. ex., Giegé R *et al.*, (1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50 (Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) *Eur J Biochem* 189: 1-23; Chayen NE (1997) *Structure* 5: 1269-1274; McPherson A (1976) *J Biol Chem* 251: 6300-6303). Os cristais de anticorpo/seu fragmento de ligação ao antígeno:antígeno podem ser estudados usando técnicas de difração de raios-X bem conhecidas e podem ser refinados usando *software* de computador tal como X-PLOR (Yale University, 1992, distribuído por Molecular Simulations, Inc.; ver, p. ex., *Meth Enzymol* (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW *et al.*, U.S. 2004/0014194) e BUSTER (Bricogne G (1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 49 (Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) *Meth Enzymol* 276A: 361-423, ed Carter CW; Roversi P *et al.*, (2000) *Acta Crystallogr D Biol*

Crystallogr 56 (Pt 10): 1316-1323). Os estudos de mapeamento de mutagênese podem ser alcançados usando qualquer método conhecido por um perito na técnica. Ver, p. ex., Champe M *et al.*, (1995) *J Biol Chem* 270: 1388-1394 e Cunningham BC & Wells JA (1989) *Science* 244: 1081-1085 para uma descrição de técnicas de mutagênese, incluindo técnicas de mutagênese de varredura de alanina.

[0081] Um anticorpo que “se liga ao mesmo epitopo” que um anticorpo de referência se refere a um anticorpo que se liga aos mesmos resíduos de aminoácidos que o anticorpo de referência. A capacidade de um anticorpo de se ligar ao mesmo epitopo que um anticorpo de referência pode ser determinada por um ensaio de troca de hidrogênio/deutério (ver Coales *et al. Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2009; 23: 639–647) ou cristalografia de raios-X.

[0082] Como usado aqui, os termos “se liga imunoespecificamente”, “reconhece imunoespecificamente”, “se liga especificamente” e “reconhece especificamente” são termos análogos no contexto de anticorpos ou seus fragmentos de ligação ao antígeno. Estes termos indicam que o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno se liga a um epitopo através de seu domínio de ligação ao antígeno e que a ligação envolve alguma complementaridade entre o domínio de ligação ao antígeno e o epitopo. Conformemente, por exemplo, um anticorpo que “se liga especificamente” a uma primeira leucotoxina de *S. aureus* pode também se ligar a outras leucotoxinas de *S. aureus*, mas a extensão da ligação a uma proteína diferente de leucotoxina, não relacionada é menor do que cerca de 10% da ligação do anticorpo à primeira leucotoxina de *S. aureus* como medida, p. ex., por um radioensaio (RIA), ensaio imunossorvente ligado a enzimas (ELISA), BiaCore ou um ensaio de ligação octet.

[0083] Se diz que um anticorpo “inibe competitivamente” a ligação

de um anticorpo de referência a um dado epitopo se se ligar preferencialmente a esse epitopo ou um epitopo sobreposto na medida em que bloqueia, até algum grau, a ligação do anticorpo de referência ao epitopo. A inibição competitiva pode ser determinada por qualquer método conhecido na técnica, por exemplo, ensaios ELISA de competição. Se pode dizer que um anticorpo inibe competitivamente a ligação do anticorpo de referência a um dado epitopo em pelo menos 90%, pelo menos 80%, pelo menos 70%, pelo menos 60% ou pelo menos 50%.

[0084] O termo “sequência de ácidos nucleicos” se destina a englobar um polímero de DNA ou RNA, *i.e.*, um polinucleotídeo, que pode ter fita simples ou fita dupla e que pode conter nucleotídeos não naturais ou alterados. Os termos “ácido nucleico” e “polinucleotídeo” como usados aqui se referem a uma forma polimérica de nucleotídeos de qualquer comprimento, ribonucleotídeos (RNA) ou desoxirribonucleotídeos (DNA). Estes termos se referem à estrutura primária da molécula e, assim, incluem DNA de fita dupla e simples e RNA de fita dupla e simples. Os termos incluem, como equivalentes, análogos de RNA ou DNA preparados a partir de análogos de nucleotídeos e polinucleotídeos modificados tais como, embora não se limitando a, polinucleotídeos metilados *e/ou capped*. Os ácidos nucleicos são tipicamente ligados através de ligações de fosfato para formar sequências de ácidos nucleicos ou polinucleotídeos, embora muitas outras ligações sejam conhecidas na técnica (p. ex., fosforotioatos, boranofosfatos e similares).

[0085] Uma infecção por *S. aureus* pode ocorrer, por exemplo, como uma infecção de pele ou tecido mole (SSTI) ou bacteremia. A bactéria *S. aureus* pode viajar através da corrente sanguínea e infectar um local no corpo, resultando em pneumonia, pneumonia em ICU, uma infecção diabética dos membros inferiores, úlcera do pé diabético (DFU), uma infecção dos ossos ou articulações, uma infecção de dispositivo, uma infecção das feridas, infecção do local cirúrgico ou osteomielite.

[0086] “Transfecção”, “transformação” ou “transdução”, como usado aqui, se refere à introdução de um ou mais polinucleotídeos exógenos em uma célula hospedeira por uso de métodos físicos ou químicos. Muitas técnicas de transfecção são conhecidas na técnica e incluem, por exemplo, coprecipitação de DNA com fosfato de cálcio (ver, p. ex., Murray E.J. (ed.), *Methods in Molecular Biology, Vol. 7, Gene Transfer and Expression Protocols*, Humana Press (1991)); DEAE-dextrano; eletroporação; transfecção catiônica mediada por lipossomos; bombardeamento de micropartículas facilitado por partículas de tungstênio (Johnston, *Nature*, 346: 776-777 (1990)); e coprecipitação de DNA de fosfato de estrôncio (Brash *et al.*, *Mol. Cell Biol.*, 7: 2031-2034 (1987)). Os vetores fágicos ou virais podem ser introduzidos em células hospedeiras, após crescimento de partículas infecciosas em células de empacotamento adequadas, muitas das quais estão comercialmente disponíveis.

[0087] Como usados aqui, os termos “tratamento”, “tratando”, e similares, se referem à obtenção de um efeito farmacológico e/ou fisiológico desejado. Em uma modalidade, o efeito é terapêutico, *i.e.*, o efeito cura parcialmente ou completamente uma doença e/ou sintoma adverso atribuível à doença.

[0088] Uma “quantidade terapeuticamente eficaz” se refere a uma quantidade eficaz, em dosagens e durante períodos de tempo necessários, para alcançar um resultado terapêutico desejado (p. ex., tratamento de infecção por *S. aureus*). A quantidade terapeuticamente eficaz pode variar de acordo com fatores tais como o estado de doença, idade, sexo e peso do indivíduo e a capacidade do anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno de provocar uma resposta desejada no indivíduo.

[0089] Uma “quantidade profilaticamente eficaz” se refere a uma quantidade eficaz, em dosagens e durante períodos de tempo necessários, para alcançar um resultado profilático desejado (p. ex., prevenção

da infecção por *S. aureus* ou início da doença).

[0090] Os termos “administrar”, “administrando”, “administração”, e similares, como usados aqui, se referem a métodos que podem ser usados para permitir a entrega de um fármaco, p. ex., uma combinação de anticorpos anti-*S. aureus* ou seus fragmentos de ligação ao antígeno ao local desejado de ação biológica (p. ex., administração intravenosa). Técnicas de administração que podem ser empregues com os agentes e métodos descritos aqui são encontradas em, p. ex., Goodman e Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, edição corrente, Pergamon; e *Remington's Pharmaceutical Sciences*, edição corrente, Mack Publishing Co., Easton, Pa.

[0091] A administração “em combinação com” um ou mais agentes terapêuticos adicionais inclui administração simultânea (concomitante) ou consecutiva em qualquer ordem.

[0092] Como usadas na presente divulgação e reivindicações, as formas singulares “um”, “uma” e “o/a” incluem referentes plurais a não ser que o contexto dite claramente de outro modo.

[0093] A não ser que especificamente afirmado ou óbvio a partir do contexto, como usado aqui, o termo “ou” é entendido como sendo inclusivo. O termo “e/ou” como usado em uma frase tal como “A e/ou B” aqui se destina a incluir “A e B”, “A ou B”, “A” e “B”. Do mesmo modo, o termo “e/ou” como usado em uma frase tal como “A, B e/ou C” se destina a englobar cada uma das seguintes modalidades: A, B e C; A, B ou C; A ou C; A ou B; B ou C; A e C; A e B; B e C; A (sozinho); B (sozinho) e C (sozinho).

II. Anticorpos anti-*Staphylococcus aureus* e suas combinações

[0094] Como proporcionado aqui, os anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpos monoclonais e fragmentos)

que se ligam às proteínas de *S. aureus* podem ser usados em combinação. Em particular, os anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno que se ligam à proteína da toxina alfa (AT) de *S. aureus*, anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno que se ligam à proteína do fator de aglutinação A (ClfA) de *S. aureus* e anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno que se ligam a pelo menos uma proteína de leucotoxina de *S. aureus* podem ser vantajosamente usados em combinação.

[0095] A toxina alfa (AT) é um fator de virulência crítico em várias doenças de *S. aureus*, incluindo pneumonia, infecções da pele e tecido mole (SSTI) e bacteremia (Bubeck Wardenburg, J. e O. Schneewind, *J. Exp. Med.*, 205: 287-294 (2008); Inoshima et al., *J. Invest. Dermatol.*, 132: 1513-1516 (2012); e Foletti et al., *supra*). A imunização passiva com anticorpos monoclonais anti-AT reduziu a gravidade da doença em modelos de pneumonia e dermonecrose (Hua et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 58: 1108-1117 (2014); Tkaczyk et al., *Clin. Vaccine Immunol.*, 19: 377-385 (2012); e Ragle, B.E. e J. Wardenburg Bubeck, *Infect. Immun.*, 77: 2712-2718 (2009)), e a vacinação com um toxoide da AT contendo uma mutação H35L (ATH35L) protegeu contra a morte em modelos de bacteremia letal e pneumonia em camundongos (Bubeck Wardenburg, *supra*, Foletti et al., *supra*, Hua et al., *supra*, Ragle, *supra*, Menzies, B.E. e D.S Kernodle, *Infect. Immun.*, 77: 2712-2718 (2009); Adhikari et al., *PLoS One*, 7: e38567 (2012)). A AT contribui para múltiplos aspectos da patogênese de *S. aureus* durante a bacteremia e a sépsis, incluindo estimulação de uma resposta hiperinflamatória característica da sépsis e a ativação da clivagem mediada por ADAM10 das junções apertadas endoteliais, levando a uma perda na integridade vascular (Powers et al., *J Infect. Dis.*, 206: 352-356 (2012); Wilke, G.A. e J. Bubeck Wardenburg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107: 13473-13478 (2010); e Becker et al., *J Innate Immun.*, 6: 619-631 (2014)). Foi também

demonstrado que a AT visa as plaquetas, o que evita a reparação da barreira endotelial lesada e promove a disfunção de órgãos através da formação de agregados de plaquetas-neutrófilos (Powers *et al.*, *Cell Host Microbe*, 17: 775-787 (2015)). A estrutura e a função da toxina alfa são descritas em detalhe em, por exemplo, Bhakdi, S. e J. Trantum-Jensen, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 55 (4): 733-751 (1991).

[0096] Os anticorpos monoclonais e policlonais que se ligam à AT são conhecidos na técnica (ver, p. ex., Hua *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 58 (2): 1108-1117 (2014); e Oganesyanyan *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 289: 29874-29880 (2014)) e estão comercialmente disponíveis a partir de fontes tais como, por exemplo, Sigma Aldrich (St. Louis, MO) e AbCam (Cambridge, MA). Anticorpos exemplificativos que se ligam à AT são divulgados, por exemplo, em WO 2012/109285 e WO 2014/074540 (ambas as quais são aqui incorporadas por referência em suas totalidades).

[0097] Em um caso, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente à toxina alfa (AT) de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou consiste em (i) um polipeptídeo da cadeia pesada compreendendo uma sequência de aminoácidos de CDR1 de SEQ ID NO:1, uma sequência de aminoácidos de CDR2 de SEQ ID NO:2 e uma sequência de aminoácidos de CDR3 de SEQ ID NO:3 e (ii) um polipeptídeo da cadeia leve compreendendo uma sequência de aminoácidos de CDR1 de SEQ ID NO:10, uma sequência de aminoácidos de CDR2 de SEQ ID NO:11 e uma sequência de aminoácidos de CDR3 de SEQ ID NO:12. Em outro caso, o polipeptídeo da cadeia pesada de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente à AT de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de amino-

ácidos da região variável de SEQ ID NO:19. Em outro caso, o polipeptídeo da cadeia leve de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente à AT de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos da região variável de SEQ ID NO:33. Em um outro caso, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente à AT de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma cadeia pesada variável compreendendo a, consistindo essencialmente na ou consistindo na sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:19 e uma região variável da cadeia leve compreendendo a, consistindo essencialmente na ou consistindo na sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:33. Em um outro caso, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente à AT de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma cadeia pesada compreendendo a, consistindo essencialmente na ou consistindo na sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:47 e/ou uma região variável da cadeia leve compreendendo a, consistindo essencialmente na ou consistindo na sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:52.

[0098] Entre as muitas adesinas de superfície de *S. aureus* foi demonstrado que o fator de aglutinação A (ClfA) desempenha um papel importante em infecções graves da corrente sanguínea (Foster *et al.*, *Nat. Rev. Microbiol.*, 12: 49-62 (2014); e Murphy *et al.*, *Hum. Vaccin.*, 7 (Supl): 51-59 (2011)). O ClfA se liga ao fibrinogênio e facilita tanto a aderência bacteriana ao fibrinogênio como a aglutinação bacteriana, ambas as quais são atributos críticos no desenvolvimento de uma infecção na corrente sanguínea por *S. aureus* (Vaudaux *et al.*, *Infect. Immun.*, 63: 585-590 (1995); McDevitt *et al.*, *Mol. Microbiol.*, 11: 237-248 (1994); e McDevitt *et al.*, *Eur. J. Biochem.*, 247: 416-424 (1997)). O ClfA ligado

à fibrina ou fibrinogênio em um local de lesão ou revestido em um dispositivo permanente pode facilitar a colonização bacteriana (Foster *et al.*, *supra*) e a aglutinação bacteriana, que se acredita que intensifica a capacidade de invasão bacteriana (McDevitt *et al.*, *Eur. J. Biochem.*, 247: 416-424 (1997); McAdow *et al.*, *PLoS Pathog.*, 7: e1002307 (2011); Flick *et al.*, *Blood*, 121: 1783-1794 (2013); e Rothfork *et al.*, *J. Immunol.*, 171: 5389-5395 (2003)). Foi também relatado que o ClfA prejudica a deposição de complemento requerida para a morte bacteriana opsonofagocítica (OPK) (Hair *et al.*, *Infect. Immun.*, 78: 1717-1727 (2010)). Consistente com estas observações, os mutantes isogênicos Δ clfA exibiram virulência reduzida em modelos de infecção (McAdow *et al.*, *supra*; Josefsson *et al.*, *PLoS One*, 3: e2206 (2008); e Josefsson *et al.*, *J. Infect. Dis.*, 184: 1572-1580 (2001)). Ainda, a imunização passiva com imunoglobulina (Ig) intravenosa (i.v.) enriquecida com anti-ClfA humano (INH-A21 ou Veronate) ou um anticorpo monoclonal (tefibazumab ou Aurexis) melhorou os resultados da doença para pacientes com infecções da corrente sanguínea por *S. aureus* (Vernachio *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 47: 3400-3406 (2003); e Vernachio *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 50: 511-518 (2006)). No entanto, estas preparações de anticorpos falharam em melhorar os resultados em estudos clínicos de profilaxia ou terapia adjuvante com vancomicina para prevenir ou tratar a bacteremia por *S. aureus* em bebês com peso extremamente baixo ao nascer (DeJonge *et al.*, *J. Pediatr.*, 151: 260-265 (2007); Capparelli *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49: 4121-4127 (2005); e Bloom *et al.*, *Pediatr. Infect. Dis.*, 24: 858-866 (2005)). A estrutura e a função do ClfA são descritas em detalhe em, por exemplo, McDevitt *et al.*, *Mol. Microbiol.*, 11: 237-248 (1994)).

[0099] Os anticorpos monoclonais e policlonais que se ligam ao ClfA são conhecidos na técnica (ver, p. ex., Patente dos E.U.A.

7,364,738; Hall *et al.*, *Infect. Immun.*, 71(12): 6864-6870 (2003); e Vernachio *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 47(11): 3400-3406 (2003)) e estão comercialmente disponíveis a partir de fontes tais como, por exemplo, Creative Biolabs (Shirley, NY). Anticorpos exemplificativos que se ligam ao ClfA são divulgados, por exemplo, em WO 2014/074540 e WO 62/702.762 (ambas as quais são aqui incorporadas por referência em suas totalidades).

[0100] Em um caso, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente ao fator de aglutinação A (ClfA) de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou consiste em (i) um polipeptídeo da cadeia pesada compreendendo uma sequência de aminoácidos de CDR1 de SEQ ID NO:4, uma sequência de aminoácidos de CDR2 de SEQ ID NO:5 e uma sequência de aminoácidos de CDR3 de SEQ ID NO:6 e (ii) um polipeptídeo da cadeia leve compreendendo uma sequência de aminoácidos de CDR1 de SEQ ID NO:13, uma sequência de aminoácidos de CDR2 de SEQ ID NO:14 e uma sequência de aminoácidos de CDR3 de SEQ ID NO:15. Em outro caso, o polipeptídeo da cadeia pesada de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente ao ClfA de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos da região variável de SEQ ID NO:20. Em outro caso, o polipeptídeo da cadeia leve de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente ao ClfA de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos da região variável de SEQ ID NO:34. Em um outro caso, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente ao ClfA de *S. aureus* compreende, consiste es-

sencialmente em ou consiste em uma cadeia pesada variável compreendendo a, consistindo essencialmente na ou consistindo na sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:20 e uma região variável da cadeia leve compreendendo a, consistindo essencialmente na ou consistindo na sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:34. Em certos casos, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente ao ClfA de *S. aureus* compreende um domínio constante da cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de CSYHLC (SEQ ID NO:55), MHEACSYHLCQKSLSL (SEQ ID NO:56) ou os aminoácidos 233-454 de SEQ ID NO:49. Em um outro caso, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente ao ClfA de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma cadeia pesada compreendendo a, consistindo essencialmente na ou consistindo na sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:49 e/ou uma região variável da cadeia leve compreendendo a, consistindo essencialmente na ou consistindo na sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:53.

[0101] Em um outro caso, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente ao ClfA de *S. aureus* (p. ex., um anticorpo com a CDRs, VH e/ou VL ou cadeias pesadas e ou leves de SAR114 -N3Y) tem IC₅₀s para ClfA001, ClfA002 e ClfA004 em um ensaio de inibição da ligação de fibrinogênio que estão dentro de 2 µg/mL umas das outras. Por exemplo, as IC₅₀s do anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno para ClfA001, ClfA002 e ClfA004 podem estar todas entre 1 µg/mL e 5 µg/mL. As afinidades de ligação (K_D) do anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno para ClfA001, ClfA002 e ClfA004 podem estar todas entre 200 e 350 pM.

[0102] Em um outro caso, um anticorpo ou fragmento de ligação ao

antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente ao ClfA de *S. aureus* (p. ex., um anticorpo com a CDRs, VH e/ou VL ou cadeias pesadas e ou leves de SAR114 -N3Y) tem uma pureza de monômero que diminui por não mais do que 5% após exposição a luz branca convencional a 2 kLux/h a 23 °C durante 14 dias.

[0103] As leucotoxinas são um outro tipo de fator de virulência de *S. aureus*. As leucotoxinas visam uma ampla gama de células imunitárias para destruição. As leucotoxinas incluem leucocidina Panton-Valentine (LukSF-PV também conhecida como LukSF), leucotoxina ED (LukED), gama hemolisina (que existe como duas toxinas: HlgAB e HlgCB) e leucotoxina AB (LukAB, também conhecida como LukGH). Em certos casos, um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina se liga a LukF, LukD e/ou HlgAB. Em certos casos, um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina se liga a LukF, LukD e HlgB.

[0104] Em um caso, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou consiste em (i) um polipeptídeo da cadeia pesada compreendendo uma sequência de aminoácidos de CDR1 de SEQ ID NO:7, uma sequência de aminoácidos de CDR2 de SEQ ID NO:8 e uma sequência de aminoácidos de CDR3 de SEQ ID NO:9 e (ii) um polipeptídeo da cadeia leve compreendendo uma sequência de aminoácidos de CDR1 de SEQ ID NO:16, uma sequência de aminoácidos de CDR2 de SEQ ID NO:17 e uma sequência de aminoácidos de CDR3 de SEQ ID NO:18. Em outro caso, o polipeptídeo da cadeia pesada de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou

consiste em uma sequência de aminoácidos da região variável de SEQ ID NO:32. Em outro caso, o polipeptídeo da cadeia leve de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos da região variável de SEQ ID NO:46. Em um outro caso, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma cadeia pesada variável compreendendo a, consistindo essencialmente na ou consistindo na sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:32 e uma região variável da cadeia leve compreendendo a, consistindo essencialmente na ou consistindo na sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:46. Em um outro caso, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga especificamente a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma cadeia pesada compreendendo a, consistindo essencialmente na ou consistindo na sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:50 e/ou uma região variável da cadeia leve compreendendo a, consistindo essencialmente na ou consistindo na sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:54.

[0105] As sequências de anticorpos anti-AT, anti-ClFA e antileucotoxinas exemplificativas são proporcionadas abaixo. Anticorpos anti-AT adicionais são proporcionados, por exemplo, na Patente dos E.U.A. N.º 9,527,905, que é aqui incorporada por referência em sua totalidade. Em certos casos, um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno descrito aqui se liga à AT, ClfA ou pelo menos uma leucotoxina e compreende as seis CDRs de um anticorpo listado nas duas tabelas abaixo (*i.e.*, as três CDRs de VH do anticorpo listado na primeira tabela e as

três CDRs de VL do mesmo anticorpo listado na segunda tabela).

[0106] O anticorpo anti-AT MEDI4893 é a versão com meia-vida prolongada (YTE) de MEDI4893* ou “LC10” descrito previamente nas Publicações de Pedidos de Patentes Internacionais WO 2012/109285 e WO 2014/074540 (ambas as quais são aqui incorporadas por referência em suas totalidades). O anticorpo anti-ClfA SAR114-N3Y é descrito no Pedido Provisório dos E.U.A. N.º 62/702,762. O anticorpo antileucotoxinas SAN481-SYT é a versão com meia-vida prolongada (YTE) de SAN481-SYT*. SAN481-SYT* não contém a mutação YTE.

Sequências de Aminoácidos de CDRs de VH

Nome do Anticorpo	Alvo do Anticorpo	CDR1 de VH (SEQ ID NO:)	CDR2 de VH (SEQ ID NO:)	CDR3 de VH (SEQ ID NO:)
MEDI4893 e MEDI4893*	AT	SHDMH (SEQ ID NO:1)	GIGTAGDYYPDSVKG (SEQ ID NO:2)	DRYSPTGHYYGMDV (SEQ ID NO:3)
SAR114 e SAR114-N3Y	ClfA	NSYWS (SEQ ID NO:4)	YLYSSGRNTYTPSLKS (SEQ ID NO:5)	THLGGFHYGGGFWFDP (SEQ ID NO:6)
11H10	ClfA	SFAMS (SEQ ID NO:62)	AISGSGGNTYYADSVKG (SEQ ID NO:63)	IAFDI (SEQ ID NO:64)
SAN481-SYT e SAN481-SYT*	Leucotoxina	TYAMH (SEQ ID NO:7)	VTSFDGSNEYIDSVKG (SEQ ID NO:8)	DEYTGGWYSVGY (SEQ ID NO:9)

Sequências de Aminoácidos de CDRs de VL

Anticorpo	Alvo do Anticorpo	CDR1 de VL (SEQ ID NO:)	CDR2 de VL (SEQ ID NO:)	CDR3 de VL (SEQ ID NO:)
MEDI4893 e MEDI4893*	AT	RASQSISSWLA (SEQ ID NO:10)	KASSLES (SEQ ID NO:11)	KQYADYWT (SEQ ID NO:12)
SAR114 e SAR114-N3Y	ClfA	RASQSITSYLN (SEQ ID NO:13)	ASSSLQS (SEQ ID NO:14)	QESYSTPPT (SEQ ID NO:15)
11H10	ClfA	RASQGIRNDLG (SEQ ID NO:65)	VASSLQS (SEQ ID NO:66)	LQHNSYPFT (SEQ ID NO:67)
SAN481-SYT e SAN481-SYT*	Leucotoxina	SGSSYNIGSNYYVY (SEQ ID NO:16)	RSIQRPS (SEQ ID NO:17)	AAWDDSLRAWV (SEQ ID NO:18)

[0107] Em certos casos, um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno descrito aqui se liga à AT, ClfA ou pelo menos uma leucotoxina e compreende a VH de um anticorpo listado na seguinte tabela,

p. ex., em combinação com uma VL.

Sequências de Aminoácidos da Cadeia Pesada Variável (VH)

Anticorpo	Alvo do Anticorpo	Sequência de Aminoácidos de VH (SEQ ID NO)
MEDI4893 e MEDI4893*	AT	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHDMHWVRQATGKGLEWVSGIGTAGDTYYP- DSVKGRFTISRENAKNSLYLQMNSLRAGDAVYYCARDRYSPGHYYGMDVWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:19)
SAR114 e SAR114-N3Y	CfA	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGGSIQNSYWSWIRQPPGKLEWIGYLYSSGRNTYTPS- LKSRTISVDTSKNQFSLKSSVTAADTAVYYCARTHLGGFHYGGGFWDVWQGTTLTVSS (SEQ ID NO:20)
11H10	CfA	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFAMSWVRQAPGKLEWVSAIS- GSGGNTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKIAFDIWDGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:68)
SAR72	CfA	EVQLVESGGGLVQPGGSLRVSCAASGFSFRNALMSWVRQAPGKLEWVGRSKTDGG- TTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTGGGGPPGDYDYGMDVWGQGTTV TVSS (SEQ ID NO:21)
SAR80	CfA	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMTWVRQAPGKLEWVGRIRSKTAGG- TTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMTSLKIEDTALYCYMTDGLLLNFSDPHHYWGQGTTRTV SS (SEQ ID NO:22)
SAR113	CfA	EVQLVQSGAEVKKPGESEKISCKAXGYXFTSYWIGWVRQVPGKLEWVGMIIYPGDS- DTRHSPSFQGVTVISVDKISISTAYLQWSSLKASDSAMYCARHQSGSHGFDAFEIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:23)
SAR132	CfA	EVQLVQSGAEVKKPGESEKISCKGSGYNFTNYWIAWVRQMPGKLEWVGMIIYPGDS- DTRYSPSFLGQVVISVDKSFITAYLQWRSLKASDTAMYYCARRPQQKPYDYWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO:24)
SAR352	CfA	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNNAWMSWVRQAPGKLEWVGRISSETAGG- TTDYAAPVKGRFSISRDDSRNTLYLEMNSLKTEDTAVYYCTDSTYPLEEPCPNVCYTYYYGMDV WGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO:25)
SAR372	CfA	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFIFNRYSMNWVRQAPGKLEWVSYISSSSPIY- YADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCASRVTLGLEFDVWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO:26)
SAR510	CfA	QVTLRESGPALVKPTQTLTCTFSGFSLSTSGMCGVWIRQPPGKALEWLALIEWDDD- KYNTSLKTRLSISKDTSKNQVLTMTNMDPVDGTYYCARHSSSRGFDYWGQALVTVSS (SEQ ID NO:27)
SAR547	CfA	EVQLVQSGAEVKKPGESEKISCKGSGYSFTTYWIAWVRQMPGKLEWVGMIIYPGDS- DTRYSPSFLGQVVISADKSTATAYLQWSSLNASDSAMYCARQGGSHGYDAFHMWGGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:28)
SAS1	CfA	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSTYALNWRQAPGKLEWVAGING- TGYNTYYADSVRGRFTISRDNKNTVLEMNLSRVEDTATYCHKVPWWGQGTTLVSVSS (SEQ ID NO: 29)
SAS19	CfA	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLCTFVSGGSINNSYWTWIRQPPGQGLEWIGFVFSGRNTYSPS- LKSRTISVDTSKNLFSLRLSVTAADTAVYFCARQVHYDFWSGYSLTKTNWFDVWQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO:30)
SAS203	CfA	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGGSINNSYWTWIRQPPGQGLEWIGFVFSGRNTYSPS- LKSRTISVDTSKNFFSLRLNSVTAADTAVYFCARQVHYDLWSGYSLTKTNWFDVWQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO:31)
SAN481-SYT e SAN481-SYT*	Leucotoxina	QLQLVESGGGAVQPGKSLKLSAASGFTFSTYAMHWVRQAPGRGLEWVAVTSFDGS- NEYIDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMTGLRVEDTALYFCARDEYTGWYSGVYWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO:32)

[0108] Em certos casos, um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno descrito aqui se liga à AT, CfA ou pelo menos uma leucotoxina e compreende a VL de um anticorpo listado na seguinte tabela, p. ex., em combinação com uma VH, opcionalmente a VH do mesmo anticorpo listado na tabela precedente.

Sequências de Aminoácidos da Cadeia Leve Variável (VL)

Anticorpo	Alvo do Anticorpo	Sequência de Aminoácidos de VL (SEQ ID NO)
MEDI4893 e MEDI4893*	AT	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPS-RFSGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQYADYWTFGQGTKEIK (SEQ ID NO:33)
SAR114 e SAR114-N3Y	ClfA	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYASSLSQSGVPS-RFSGSGSGTDFTLTISLQPDFATYYCQESYSTPPTFGQGTKEIK (SEQ ID NO:34)
11H10	ClfA	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQGIKIRNDLWYQQKPGKAPKLLIYVASSLQSGVPS-RFSGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQYADYWTFGQGTKEIK (SEQ ID NO:69)
SAR72	ClfA	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAYWYQQKSGQAPVLIYEDKRRPSGIPER-FSGSSSGTMATLTISGAQVEADYCYSTDSSEGVFSGGGLTKLTVL (SEQ ID NO:35)
SAR80	ClfA	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAYWYQQKSGQAPVLIYEDKRRPSGIPER-FSGSSSGTMATLTISGAQVEADYHCYSTDSGGVVFSGGGLTKLTVL (SEQ ID NO:36)
SAR113	ClfA	DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCKSSQGLVSRNKNLWYQQKPGQPPKLLIYWASTRES-GVPRFSGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYCCQYNNLRFTFGQGTKEIK (SEQ ID NO:37)
SAR132	ClfA	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQRISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTLESEVPS-RFSGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQYISYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO:38)
SAR352	ClfA	QSVLTQPPSVSAAPGKVTISCSGSSNIGANSVSWYQQFPGTAPKLLIYDNDKRRPSGVP-DRFSGSGSGTSATLGITGLQGTDEADYCYGTVVWVILSAGWVFGGGLTKLTVL (SEQ ID NO:39)
SAR372	ClfA	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP-DRFSGSGSGTDFTLTISLQPDFAVYCCQLRSNWAYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO:40)
SAR510	ClfA	SYGLTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALAKQYVWYQQKPGQAPVLIYEDKRRPSGIPER-FSGSSSGTIVTLTISGVAEADYCYQADSSRTYVFGTGTKEIK (SEQ ID NO: 41)
SAR547	ClfA	DVVMTQSPSLPVTGLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLNWVFGQRPQSPRRLLIYKVSN-RDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYVCMQGTHTLWTFGQGTKEIK (SEQ ID NO:42)
SAS1	ClfA	DIVLTQSPESLAVSLGERATISCKSSQSLFFKSNKNLWYQQKPGQPPKVIYVASTRES-GVPAFSGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYFCHQYYSYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO:43)
SAS19	ClfA	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRISQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS-RVNGSTSGTEFTLTISLQPDFATYYCQYQSYSTPWTFGQGTKEIK (SEQ ID NO:44)
SAS203	ClfA	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRISQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS-RFNGSTSGTDFTLTISLQPDFATYYCQYQSYSTPWTFGQGTKEIK (SEQ ID NO:45)
SAN481-SYT e SAN481-SYT*	Leucotoxina	QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSYNIQSNVYVWYQQFPGTAPKLLISIRSIQRRPSGVP-DRFSGSKSVTSASLAISGLRSEADYCAAWDDSLRAWVFGGGLTKLTVL (SEQ ID NO:46)

[0109] Em certos casos, um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno descrito aqui se liga à AT, ClfA ou pelo menos uma leucotoxina e compreende a cadeia pesada de um anticorpo listado na seguinte tabela, p. ex., em combinação com uma cadeia leve.

Sequências de aminoácidos da cadeia pesada de comprimento total

Anticorpo	Alvo do Anticorpo	Sequência de Aminoácidos da Cadeia Pesada de Comprimento Total (SEQ ID NO)
MEDI4893	AT	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHDMHWVRQATGKGLEWVSGIGTAGDYYTYP-DSVKGRFTISRENAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDRYSPYTHGYYGMDVWVGGTITVSSASTKGLPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS-LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS-TYRVSIVLTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN-VFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO:47)
MEDI4893*	AT	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHDMHWVRQATGKGLEWVSGIGTAGDYYTYP-DSVKGRFTISRENAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDRYSPYTHGYYGMDVWVGGTITVSSASTKGLPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS-LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS-TYRVSIVLTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN-VFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO:48)
SAR114-N3Y	ClfA	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIQNSYWSWIRQPPGKLEWIGYLYSSGRNTYTPS-LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARTHLGGFHYGGGFVDFPWGQGLTVTVSSASTKGP

		SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS- LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS- TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN- VFSCSVMHEACSYHLCSLSPGK (SEQ ID NO:49)
SAR114	ClfA	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIQNSYWSWIRQPPGKLEWIGYLYSSGRTNYTPS- LKSRTVTSVDTSKNQFSLKSSVTAADTAVYYCARTHLGGFHYGGGFWDPPWGGTLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS- LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS- TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN- VFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK (SEQ ID NO:70)
SAN481-SYT	Leucotoxina	QLQLVESGGGAVQPGRSLLKSCAASGFTTFSTYAMHWVRQAPGRGLEWVAVTSFDGS- NEYIDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMTGLRVEDTALYFCARDEYTGWYSGVYWGQGLTVSSAST KGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS- LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL YITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS- TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN- VFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK (SEQ ID NO:50)
SAN481-SYT*	Leucotoxina	QLQLVESGGGAVQPGRSLLKSCAASGFTTFSTYAMHWVRQAPGRGLEWVAVTSFDGS- NEYIDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMTGLRVEDTALYFCARDEYTGWYSGVYWGQGLTVSSAST KGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS- LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS- TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN- VFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK (SEQ ID NO:51)

[0110] Em certos casos, um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno descrito aqui se liga à AT, ClfA ou pelo menos uma leucotoxina e compreende a cadeia leve de um anticorpo listado na seguinte tabela, p. ex., em combinação com uma cadeia pesada, opcionalmente a cadeia pesada do mesmo anticorpo listado na tabela precedente.

Sequências de aminoácidos da cadeia leve de comprimento total

Anticorpo	Alvo do Anticorpo	Sequência de Aminoácidos da Cadeia Leve de Comprimento Total (SEQ ID NO)
MEDI4893 e MEDI4893*	AT	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESQVPS- RFGSGSGTEFTLTISSLQPDFATYICKQYADYWFQGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTY- LSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE (SEQ ID NO:52)
SAR114-N3Y	ClfA	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYASSLSQVPS- RFGSGSGTDFTLTISSLQPDFATYICQESYTPPTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTY- LSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:53)
SAN481-SYT e SAN481-SYT*	Leucotoxina	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSYNISSNYVYVYQQFPGTAPKLLISRSIQRPSGVP- DRFSGSKSVTSASLAISGLRSEDEADYCAAWDDSLRAWVFGGGTKLTVLGGPKAAPSIVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYYAASSYLSLTP- QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:54)

[0111] Em certos aspectos, as CDRs de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno podem ser determinadas de acordo com o esquema de numeração de Chothia, que se refere à localização de alças estruturais de imunoglobulina (ver, p. ex., Chothia C & Lesk AM,

(1987), *J Mol Biol* 196: 901-917; Al-Lazikani B *et al.*, (1997) *J Mol Biol* 273: 927-948; Chothia C *et al.*, (1992) *J Mol Biol* 227: 799-817; Tramontano A *et al.*, (1990) *J Mol Biol* 215 (1): 175-82; e Patente dos E.U.A. N.º 7,709,226). Tipicamente, quando se usa a convenção de numeração de Kabat, a alça CDRs-H1 de Chothia está presente nos aminoácidos da cadeia pesada 26 a 32, 33 ou 34, a alça CDRs-H2 de Chothia está presente nos aminoácidos da cadeia pesada 52 a 56 e a alça CDRs-H3 de Chothia está presente nos aminoácidos da cadeia pesada 95 a 102, enquanto a alça CDRs-L1 de Chothia está presente nos aminoácidos da cadeia leve 24 a 34, a alça CDRs-L2 de Chothia está presente nos aminoácidos da cadeia leve 50 a 56 e a alça CDRs-L3 de Chothia está presente nos aminoácidos da cadeia leve 89 a 97. A extremidade da alça CDRs-H1 de Chothia quando numerada usando a convenção de numeração de Kabat varia entre H32 e H34 dependendo do comprimento da alça (isto é porque o esquema de numeração de Kabat coloca as inserções em H35A e H35B; se nem 35A nem 35B estiverem presentes, a alça termina em 32; se somente 35A estiver presente, a alça termina em 33; se tanto 35A como 35B estiverem presentes, a alça termina em 34).

[0112] Em certos aspectos são proporcionados aqui anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno que compreendem as CDRs de VH e VL de Chothia dos anticorpos MEDI4893, SAR114-N3Y e/ou SAN481-SYT. Em certas modalidades, os anticorpos ou seus fragmentos de ligação ao antígeno compreendem uma ou mais CDRs, nas quais as CDRs de Chothia e Kabat têm a mesma sequência de aminoácidos. Em certas modalidades são proporcionados aqui anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno compreendendo combinações de CDRs de Kabat e CDRs de Chothia.

[0113] Em certos aspectos, as CDRs de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno podem ser determinadas de acordo com o sistema de numeração de IMGT como descrito em Lefranc M-P,

(1999) *The Immunologist* 7: 132-136 e Lefranc M-P *et al.*, (1999) *Nucleic Acids Res* 27: 209-212. De acordo com o esquema de numeração de IMGT, VH-CDR1 está nas posições 26 a 35, VH-CDR2 está nas posições 51 a 57, VH-CDR3 está nas posições 93 a 102, VL-CDR1 está nas posições 27 a 32, VL-CDR2 está nas posições 50 a 52 e VL-CDR3 está nas posições 89 a 97. Em uma modalidade particular são proporcionados aqui anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno que compreendem as CDRs de VH e VL de IMGT dos anticorpos MEDI4893, SAR114-N3Y e/ou SAN481-SYT, por exemplo, como descrito em Lefranc M-P (1999) *supra* e Lefranc M-P *et al.*, (1999) *supra*).

[0114] Em certos aspectos, as CDRs de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno podem ser determinadas de acordo com MacCallum RM *et al.*, (1996) *J Mol Biol* 262: 732-745. Ver também, p. ex., Martin A. “*Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains*”, em *Antibody Engineering*, Kontermann e Dübel, eds., Capítulo 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlim (2001). Em uma modalidade particular são proporcionados aqui anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno que compreendem as CDRs de VH e VL dos anticorpos MEDI4893, SAR114-N3Y e/ou SAN481-SYT determinadas pelo método em MacCallum RM *et al.*

[0115] Em certos aspectos, as CDRs de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno podem ser determinadas de acordo com o esquema de numeração de IMGT, que refere regiões hipervariáveis de AbM que representam um compromisso entre as CDRs de Kabat e as alças estruturais de Chothia e são usadas pelo *software* de modelação de anticorpos AbM da Oxford Molecular (Oxford Molecular Group, Inc.). Em uma modalidade particular são proporcionados aqui anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno que compreendem CDRs de VH e VL dos anticorpos MEDI4893, SAR114-N3Y e/ou SAN481-SYT como determinado pelo esquema de numeração de AbM.

[0116] Em um outro aspecto, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) descrito aqui pode compreender uma região constante (Fc) de qualquer classe adequada (p. ex., IgG, IgA, IgD, IgM e IgE) que foi modificada de modo a melhorar a meia-vida do anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento). Por exemplo, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) descrito aqui pode compreender um Fc que compreende uma mutação que prolonga a meia-vida em relação ao mesmo anticorpo sem a mutação.

[0117] A manipulação da região Fc é amplamente usada na técnica para prolongar a meia-vida de anticorpos terapêuticos e proteger da degradação *in vivo*. Em algumas modalidades, a região Fc de um anticorpo IgG ou fragmento de ligação ao antígeno pode ser modificada de modo a aumentar a afinidade da molécula de IgG para o receptor Fc neonatal (FcRn), que medeia o catabolismo de IgG e protege as moléculas de IgG da degradação. Substituições ou modificações adequadas de aminoácidos da região Fc são conhecidas na técnica e incluem, por exemplo, a substituição tripla M252Y/S254T/T256E (referida como “YTE”) (ver, p. ex., Patente dos E.U.A. 7,658,921; Publicação de Pedido de Patente dos E.U.A. 2014/0302058; e Yu *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 61 (1): e01020-16 (2017)). Em certos aspectos, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga à AT de *S. aureus* compreende uma região Fc compreendendo a mutação YTE. Em certos aspectos, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende uma região Fc compreendendo a mutação YTE. Em certos aspectos, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga à AT de *S. aureus* compreende

uma região Fc compreendendo a mutação YTE e um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende uma região Fc compreendendo a mutação YTE.

[0118] Em um outro aspecto, a região Fc pode compreender a sequência CSYHLC (referida como “N3Y”; SEQ ID NO:55). Em certos aspectos, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreende uma região Fc compreendendo a variante de Fc N3Y.

[0119] Em um outro aspecto, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) descrito aqui pode compreender uma região constante (Fc) de qualquer classe adequada (IgG, IgA, IgD, IgM e IgE) que foi modificada de modo a melhorar as funções efetoras (p. ex., morte bacteriana opsonofagocítica (OPK)), opcionalmente em que a meia-vida do anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) é também melhorada. Por exemplo, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) descrito aqui pode compreender uma Fc que compreende uma mutação que prolonga a meia-vida em relação ao mesmo anticorpo sem a mutação, e em que a mutação não inibe a atividade de OPK em relação ao mesmo anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno a mutação. A variantes de Fc N3Y, em particular, exibe propriedades farmacocinéticas (PK) (p. ex., persistência no soro) e funções efetoras (p. ex., morte bacteriana opsonofagocítica (OPK)) intensificadas em certos anticorpos em comparação com as variantes YTE.

[0120] Um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno (p. ex., anticorpo monoclonal ou fragmento) descrito aqui pode ser, ou pode ser obtido de, um anticorpo humano, um anticorpo humanizado, um anti-

corpo não humano ou um anticorpo quimérico. Em um aspecto, o anticorpo descrito aqui, ou seu fragmento de ligação ao antígeno, é um anticorpo totalmente humano.

[0121] Um anticorpo humano, um anticorpo não humano, um anticorpo quimérico ou um anticorpo humanizado pode ser obtido por qualquer meio, incluindo através de fontes *in vitro* (p. ex., um hibridoma ou uma linha de células produzindo um anticorpo recombinantemente) e fontes *in vivo* (p. ex., roedores, amígdalas humanas). Métodos para gerar anticorpos são conhecidos na técnica e são descritos em, por exemplo, Köhler e Milstein, *Eur. J. Immunol.*, 5: 511-519 (1976); Harlow e Lane (eds.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, CSH Press (1988); e Janeway *et al.* (eds.), *Immunobiology*, 5ª Ed., Garland Publishing, Nova Iorque, N.Y. (2001)). Em certas modalidades, um anticorpo humano ou um anticorpo quimérico pode ser gerado usando um animal transgênico (p. ex., um camundongo) em que um ou mais genes de imunoglobulina endógena são substituídos por um ou mais genes de imunoglobulina humana. Exemplos de camundongos transgênicos em que genes de anticorpos endógenos são efetivamente substituídos por genes de anticorpos humanos incluem o, mas não estão limitados ao, HUMAB-MOUSE™ da Medarex, TC MOUSE™ da Kirin e KM-MOUSE™ da Kyowa Kirin (ver, p. ex., Lonberg, *Nat. Biotechnol.*, 23 (9): 1117-25 (2005), e Lonberg, *Handb. Exp. Pharmacol.*, 181: 69-97 (2008)). Um anticorpo humanizado pode ser gerado usando qualquer método adequado conhecido na técnica (ver, p. ex., An, Z. (ed.), *Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, N.J. (2009)), incluindo, p. ex., enxerto de CDRs não humanas em um molde de anticorpo humano (ver, p. ex., Kashmiri *et al.*, *Methods*, 36 (1): 25-34 (2005); e Hou *et al.*, *J. Biochem.*, 144 (1): 115-120 (2008)). Em uma modalidade, um anticorpo humanizado pode ser produzido

usando os métodos descritos, p. ex., na Publicação do Pedido de Patente dos E.U.A. 2011/0287485 A1.

III. Ácidos nucleicos, vetores e células hospedeiras

[0122] São também proporcionadas aqui uma ou mais sequências de ácidos nucleicos isoladas que codificam o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA ou o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina (opcionalmente em que um ou mais dos anticorpos ou seus fragmentos de ligação ao antígeno são um anticorpo monoclonal ou fragmento).

[0123] A divulgação proporciona ainda um ou mais vetores compreendendo uma ou mais sequências de ácidos nucleicos codificando anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA e/ou o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina (opcionalmente em que um ou mais dos anticorpos ou seus fragmentos de ligação ao antígeno são um anticorpo monoclonal ou fragmento). O vetor pode ser, por exemplo, um plasmídeo, epissoma, cosmídeo, vetor viral (p. ex., retroviral ou adenoviral) ou fago. Vetores e métodos de preparação de vetores adequados são bem conhecidos na técnica (ver, p. ex., Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning, a Laboratory Manual*, 3ª edição, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001) e Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons, Nova Iorque, N.Y. (1994)).

[0124] Ainda à sequência de ácidos nucleicos codificando o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA e/ou o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo

menos uma leucotoxina (opcionalmente em que um ou mais dos anticorpos ou seus fragmentos de ligação ao antígeno são um anticorpo monoclonal ou fragmento), o vetor compreende desejavelmente sequências de controle da expressão, tais como promotores, intensificadores, sinais de poliadenilação, terminadores da transcrição, locais de entrada de ribossomo interno (IRES) e similares, que proporcionam a expressão da sequência de codificação em uma célula hospedeira. Sequências de controle da expressão exemplificativas são conhecidas na técnica e descritas em, por exemplo, Goeddel, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology*, Vol. 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990).

[0125] O(s) vetor(es) compreendendo o(s) ácido(s) nucleico(s) codificando o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA ou o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina (opcionalmente em que um ou mais dos anticorpos ou seus fragmentos de ligação ao antígeno são um anticorpo monoclonal ou fragmento) pode(m) ser introduzido(s) em uma célula hospedeira que é capaz de expressar os polipeptídeos codificados deste modo, incluindo qualquer célula procariótica ou eucariótica adequada. Como tal, a presente divulgação proporciona uma célula isolada compreendendo o vetor. As células hospedeiras que podem ser usadas incluem aquelas que podem ser facilmente e confiavelmente cultivadas, têm taxas de crescimento razoavelmente rápidas, têm sistemas de expressão bem caracterizados e podem ser transformadas ou transfectadas facilmente e eficientemente. Exemplos de células procarióticas adequadas incluem, mas não estão limitados a, células do gênero *Bacillus* (tais como *Bacillus subtilis* e *Bacillus brevis*), *Escherichia* (tais como *E. coli*), *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Salmonella* e *Erwinia*. Células

procarióticas particularmente úteis incluem as várias estirpes de *Escherichia coli* (p. ex., K12, HB101 (ATCC N.º 33694), DH5a, DH10, MC1061 (ATCC N.º 53338) e CC102). Células eucarióticas adequadas são conhecidas na técnica e incluem, por exemplo, células de levedura, células de inseto e células de mamífero. Em uma modalidade, o vetor é expresso em células de mamífero. Um número de células hospedeiras de mamífero adequadas é conhecido na técnica, e muitas estão disponíveis a partir da American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA). Exemplos de células de mamífero adequadas incluem, mas não estão limitados a, células de ovário de *hamster* chinês (CHO) (ATCC N.º CCL61), células CHO DHFR (Urlaub *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97: 4216-4220 (1980)), células de rim embrionário humano (HEK) 293 ou 293T (ATCC N.º CRL1573) e células 3T3 (ATCC N.º CCL92). Outras linhas de células de mamíferos adequadas são as linhas de células COS-1 de macaco (ATCC N.º CRL1650) e COS-7 (ATCC N.º CRL1651), bem como a linha de células CV-1 (ATCC N.º CCL70). A célula de mamífero é desejavelmente uma célula humana. Por exemplo, a célula de mamífero pode ser uma linha de células humanas linfoides ou derivada de linfóide, tal como uma linha de células de origem em linfócitos pré-B, uma linha de células PER.C6[®] (Crucell Holland BV, Países Baixos) ou células de rim embrionário humano (HEK) 293 ou 293T (ATCC N.º CRL1573).

[0126] Uma sequência de ácidos nucleicos codificando aminoácidos de qualquer um dos anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno (opcionalmente anticorpos monoclonais ou fragmentos) descritos aqui pode ser introduzida em uma célula por transfecção, transformação ou transdução.

IV. Composições farmacêuticas e métodos de uso de combinações de anticorpos anti-*Staphylococcus aureus*

[0127] A presente divulgação proporciona uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de qualquer um ou combinação dos anticorpos ou seus fragmentos de ligação ao antígeno descritos aqui e um transportador farmacologicamente aceitável. Em uma modalidade, por exemplo, a composição pode compreender um primeiro anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno (opcionalmente monoclonal) que se liga especificamente à proteína de toxina alfa de *S. aureus*, como descrito acima, um segundo anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno (opcionalmente monoclonal) que se liga especificamente à proteína ClfA de *S. aureus* e um terceiro anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno (opcionalmente monoclonal) que se liga especificamente a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*, como descrito acima, e um transportador farmacologicamente aceitável. Alternativamente, a composição pode compreender um transportador farmacologicamente aceitável e qualquer um ou dois de (i) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga especificamente à AT de *S. aureus*, (ii) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se especificamente ao ClfA de *S. aureus*, (iii) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga especificamente a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*.

[0128] Em um outro aspecto, a composição pode compreender as sequências de ácidos nucleicos codificando o anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno, o anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno e/ou o anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno ou um ou mais vetores compreendendo tais sequências de ácidos nucleicos. Em um aspecto, a composição é uma composição farmacologicamente aceitável (p. ex., fisiologicamente aceitável), que compreende um transportador, tal como um transportador farmacologicamente aceitável (p. ex., fisiologicamente

aceitável) e o anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno, o anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno e/ou o anticorpo antileucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno, sequência(s) de ácidos nucleicos ou vetor(es).

[0129] Qualquer transportador adequado pode ser usado no contexto da divulgação, e tais transportadores são bem conhecidos na técnica. A escolha de transportador será determinada, em parte, pelo local particular ao qual a composição pode ser administrada e pelo método particular usado para administrar a composição. A composição pode ser opcionalmente estéril. A composição pode ser congelada ou liofilizada para armazenamento e reconstituída em um transportador estéril adequado antes do uso. As composições podem ser geradas de acordo com técnicas convencionais descritas em, p. ex., *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 21ª Edição, Lippincott Williams & Wilkins, Filadélfia, PA (2001).

[0130] A composição compreende desejavelmente o anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno, o anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno e o anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno em uma quantidade que é eficaz para tratar ou prevenir uma infecção por *S. aureus*. Em um outro aspecto, a composição compreende o anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno em uma quantidade que é eficaz para tratar ou prevenir uma infecção por *S. aureus* em combinação com o anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno e o anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno. Em um outro aspecto, a composição compreende o anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno em uma quantidade que é eficaz para tratar ou prevenir uma infecção por *S. aureus* em combinação com o anticorpo de ligação à AT ou fragmento de

ligação ao antígeno e o anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno. Em um outro aspecto, a composição compreende o anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno em uma quantidade que é eficaz para tratar ou prevenir uma infecção por *S. aureus* em combinação com o anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno e o anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno. Em um outro aspecto, a composição compreende o anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno e o anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno em uma quantidade que é eficaz para tratar ou prevenir uma infecção por *S. aureus* em combinação com o anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno. Em um outro aspecto, a composição compreende o anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno e o anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno em uma quantidade que é eficaz para tratar ou prevenir uma infecção por *S. aureus* em combinação com o anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno. Em um outro aspecto, a composição compreende o anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno e o anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno em uma quantidade que é eficaz para tratar ou prevenir uma infecção por *S. aureus* em combinação com o anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno.

[0131] Para este fim, o método divulgado compreende administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz ou quantidade profilaticamente eficaz de um anticorpo de ligação à AT ou seu fragmento de ligação ao antígeno, um anticorpo de ligação ao ClfA ou seu fragmento de ligação ao antígeno e um anticorpo de ligação às leucotoxinas ou seu fragmento de ligação ao antígeno ou uma composição compreen-

dendo qualquer um ou qualquer combinação dos anticorpos ou fragmentos acima mencionados (incluindo anticorpos monoclonais ou fragmentos).

[0132] A divulgação proporciona um método de tratamento ou prevenção de uma infecção por *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) em um indivíduo (p. ex., um humano), que compreende administração do anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno, do anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno e/ou do anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno descritos aqui a um indivíduo com sua necessidade, após o que a infecção por *S. aureus* é tratada ou prevenida no indivíduo. A divulgação proporciona também uso do anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno, do anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno e/ou do anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno, descritos aqui, ou da composição compreendendo qualquer um ou combinação dos anticorpos ou seus fragmentos descritos aqui, na fabricação de um medicamento para tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus*.

[0133] Como discutido aqui, a *Staphylococcus aureus* é um importante patógeno humano que causa uma ampla gama de infecções clínicas. A *S. aureus* é uma das principais causas de bacteremia e endocardite infecciosa bem como infecções osteoarticulares, da pele e tecido mole, pleuropulmonares e relacionadas com dispositivos. Aproximadamente 30% da população humana é colonizada com *S. aureus* (Wertheim *et al.*, *Lancet Infect. Dis.*, 5: 751-762 (2005)). Os sintomas de infecções cutâneas por *S. aureus* incluem, por exemplo, furúnculos, celulite e impetigo. A *S. aureus* pode também causar intoxicação alimentar, envenenamento do sangue (também conhecido como bacteremia), síndrome do choque tóxico e artrite séptica. A epidemiologia, patofisiologia e manifestações clínicas de infecções por *S. aureus* são descritas

em detalhe em, p. ex., Tong *et al.*, *Clin. Microbiol. Rev.*, 28 (3): 603-661 (2015), e os genomas de várias estirpes diferentes de *S. aureus* foram sequenciados (ver, p. ex., N.^{os} de Acesso do GenBank/EMBL BX571856, BX571857, BX571858, FN433596, FN433597, FN433598, HE681097, FR821777, FR821778, FR821778 e FR821780). Como discutido aqui, o indivíduo (p. ex., indivíduo humano) pode ter diabetes.

[0134] Em certos casos, uma quantidade terapêuticamente eficaz do anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno, do anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno e/ou do anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno é uma quantidade que inibe a sépsis associada a *S. aureus*, inibe a aglutinação de *S. aureus*, inibe a formação de lesões tromboembólicas, neutraliza a toxina alfa, neutraliza LukSF, HlgAB, HlgCB e LukED, induz a opsonofagocitose, inibe a ligação de fibrinogênio de *S. aureus*, inibe a aglutinação de *S. aureus* ou qualquer combinação dos anteriores, em um humano.

[0135] Alternativamente, o efeito farmacológico e/ou fisiológico pode ser profilático, *i.e.*, o efeito previne completamente ou parcialmente uma doença ou seu sintoma. A este respeito, o método divulgado compreende administração de uma “quantidade profilaticamente eficaz” do anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno, do anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno e/ou do anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno (incluindo anticorpos monoclonais ou fragmentos).

[0136] A eficácia terapêutica ou profilática pode ser monitorizada por avaliação periódica de pacientes tratados. Para administrações repetidas ao longo de vários dias ou mais, dependendo da condição, o tratamento pode ser repetido até que ocorra uma supressão desejada dos sintomas da doença. No entanto, outros regimes de dosagem po-

dem ser úteis e estão dentro do escopo da presente divulgação. A dosagem desejada pode ser entregue por uma única administração em bólus da composição, por múltiplas administrações em bólus da composição ou por administração por infusão contínua da composição.

[0137] O método de tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* pode compreender administração do anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno, do anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno e/ou do anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno na mesma composição ou em composições separadas. Quando composições separadas são administradas ao indivíduo, cada uma das composições pode ser administrada simultaneamente ou sequencialmente em qualquer ordem.

[0138] A(s) composição(ões) compreendendo uma quantidade eficaz de qualquer um ou combinação dos anticorpos descritos aqui, ou seus fragmentos de ligação ao antígeno, a(s) sequência(s) de ácidos nucleicos codificando qualquer um dos anteriores, ou o vetor compreendendo a sequência de ácidos nucleicos, podem ser administrados a um indivíduo, tal como um humano, usando técnicas de administração padrão, incluindo vias de administração intravenosa, intraperitoneal, subcutânea e intramuscular. A composição pode ser adequada para administração parenteral. O termo “parenteral”, como usado aqui, inclui administração intravenosa, intramuscular, subcutânea e intraperitoneal. Em algumas modalidades, a composição é administrada a um indivíduo usando administração sistêmica periférica por injeção intravenosa, intraperitoneal ou subcutânea.

[0139] O anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno, o anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno e/ou o anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de liga-

ção ao antígeno ou composição(ões) compreendendo os mesmos podem ser administrados sozinhos ou em combinação com outros fármacos (p. ex., como um adjuvante) convencionalmente usados para tratamento de infecções por *S. aureus*. A(s) composição(ões) compreendendo o anticorpo de ligação à AT ou fragmento de ligação ao antígeno, o anticorpo de ligação ao ClfA ou fragmento de ligação ao antígeno e/ou o anticorpo de ligação às leucotoxinas ou fragmento de ligação ao antígeno pode(m) ser usada(s) em combinação com, por exemplo, um ou mais antibióticos, tais como um antibiótico de β -lactama resistente à penicilinase (p. ex., oxacilina ou flucloxacilina). A gentamicina pode ser usada para tratar infecções graves, tais como endocardite. A maioria das estirpes de *S. aureus*, no entanto, é agora resistente à penicilina, e duas em cada 100 pessoas transportam estirpes de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA). As infecções por MRSA são tipicamente tratadas com vancomicina, e infecções menores da pele podem ser tratadas com pomada antibiótica tripla.

[0140] Os seguintes exemplos ilustram ainda a invenção mas, obviamente, não devem ser interpretados como limitando de qualquer modo seu escopo.

EXEMPLO 1

[0141] Este exemplo demonstra que os anticorpos que se ligam à toxina alfa (AT), fator de aglutinação A (ClfA) e leucotoxinas não interferem com as atividades *in vitro* uns dos outros quando usados em combinação.

[0142] Várias experiências foram conduzidas para determinar se o uso de anticorpos que se ligam à AT, ClfA e leucotoxinas em combinação interferiria com a atividade de qualquer um destes ensaios individuais. Em estas experiências, os anticorpos MEDI4893*, SAR114 e SAN481-SYT* foram usados em combinação e são coletivamente referidos como “MEDI6389”.

[0143] Um ensaio de inibição de hemólise de glóbulos vermelhos (RBC) foi realizado para determinar se os anticorpos anti-ClfA SAR114 ou antileucotoxinas SAN481-SYT* interferiram com a atividade de MEDI4893*. Células vermelhas do sangue de coelho lavadas (50 µL) foram incubadas com toxina alfa nativa (0,1 µg/mL em 25 µL) e diluição em série de 25 µL de MEDI4893*, SAN481_SYT* + SAR114 ou combinação de trio de mAb (MEDI6389) como indicado na Figura 2. O mAb c-IgG irrelevante foi usado como controle negativo. Após 2 h de incubação a 37 °C, a liberação de hemoglobina foi medida em sobrenadantes de 50 mL a OD450 nm. A % de inibição da hemólise foi medida como: $100 * [(OD_{AT + mAb}) / (OD_{AT \text{ sozinho}})]$. Os resultados, mostrados na Figura 2 e na Tabela 1, abaixo, demonstram que o uso dos três anticorpos em combinação (MED6389) foi quase tão eficaz na inibição da hemólise de RBC como MEDI4893* sozinha.

[0144] Um ensaio de viabilidade de monócitos foi realizado para determinar se os anticorpos anti-AT MEDI4893* ou anti-ClfA SAR114 interferiram com a atividade de SAN481-SYT*. A linha de células monocíticas humanas HL-60 (5e4/poço/25 µL) foi incubada durante 2 h a 37°C com uma mistura de LukS + LukF (100 ng/mL cada) e diluição em série como indicado na Figura 3 de SAN481_SYT*, MEDI4893* + SAR114 ou combinação de trio de mAb (MEDI6389). O mAb c-IgG irrelevante foi usado como controle negativo. A viabilidade celular foi quantificada por medição do sinal luminescente em um ensaio Cell Glo (Promega) seguindo as instruções da empresa. A % de viabilidade foi calculada como se segue: $100 * [(OD_{\text{células} + \text{LukSF} + \text{mAb}}) / (OD_{\text{células} \text{ sozinhas}})]$. Os resultados, mostrados na Figura 3 e na Tabela 1, abaixo, demonstram que o uso dos três anticorpos em combinação (MED6389) foi quase tão eficaz na manutenção da viabilidade de monócitos como SAN481-SYT* sozinho.

[0145] Um ensaio de inibição da ligação de fibrinogênio foi realizado

para determinar se os anticorpos anti-AT MEDI4893* ou antileucotoxinas SAN481-SYT* interferiram com a atividade de SAR114. A placa de 96 poços revestida com fibrinogênio (4 µg/mL) foi bloqueada com PBS, BSA a 2% e, após lavagens, incubada durante 1 h à temperatura ambiente com um ClfA001 biotilado (2 µg/mL) e diluição em série de SAR114, MEDI4893* + SAN481_SYT* ou combinação de trio de mAb (MEDI6389) como indicado na Figura 4. Após 3 lavagens, as placas foram incubadas com estreptavidina-ficoeritrina a 1:10 000 durante 1 h, e a OD_{450 nm} lida após adição de 100 µL de TMB e, depois, 100 µL de H₂SO₄ a 0,2 M. O mAb c-IgG irrelevante foi usado como controle negativo. A percentagem (%) de inibição da ligação de fibrinogênio foi calculada como: $100 * [(OD_{ClfA + mAb}) / (OD_{ClfA sozinho})]$. Os resultados, mostrados na Figura 4 e na Tabela 1, abaixo, demonstram que o uso dos três anticorpos em combinação (MED6389) foi quase tão eficaz na inibição da ligação de fibrinogênio como SAR114 sozinho.

Tabela 1.

IC50 (µg/mL)	MEDI4893*	SAN481-SYT*	SAR114	MEDI6389
Ensaio de RBC	0,1731			0,1635
Viabilidade de monócitos		0,225		0,2246
Ligação de Fg			3,02	2,63

[0146] O uso da combinação dos três anticorpos (MEDI6389) não inibiu a atividade de MEDI4893 no ensaio de RBC, a atividade de SAN481* no ensaio de viabilidade de monócitos ou a ligação de Fg de SAR114.

EXEMPLO 2

[0147] Este exemplo demonstra que a combinação de anticorpos que se ligam à toxina alfa (AT) e leucotoxinas é superior a qualquer um dos anticorpos sozinhos em um modelo de cicatrização de feridas.

[0148] Em estas experiências, camundongos Balb/c fêmeas com 6-7 semanas de idade (n = 5) foram imunizados intraperitonealmente com (i) 0,5 mg/kg de um anticorpo de controle (c-IgG), (ii) 0,1 mg/kg do anticorpo anti-AT MEDI4893*, (iii) 0,5 mg/kg do anticorpo antileucotoxinas

SAN481-SYT* ou (iv) MEDI4893* (0,1 mg/kg) e SAN481-SYT* (0,5 mg/kg). Os camundongos foram intradermicamente infectados 24 h depois com um isolado de ferida 1447526 (5e7cfu em 50 µL de PBS).

[0149] As lesões foram monitorizadas ao longo de 17 dias, e os resultados são mostrados na Figura 5. Os tamanhos das lesões foram significativamente mais pequenos em camundongos tratados com a combinação de anticorpos anti-AT e antileucotoxinas do que em camundongos tratados com qualquer um dos anticorpos sozinhos ($p < 0,05$ e indicado com um (*)). As imagens na Figura 5 mostram lesões no dia 7 pós-infecção.

EXEMPLO 3

[0150] Este exemplo demonstra que a neutralização da toxina alfa (AT), fator de aglutinação A (ClfA) e leucotoxinas são todas necessárias para proteção *in vivo* no modelo de bacteremia de coelho.

[0151] Em estas experiências, coelhos fêmeas com 3 meses de idade ($n = 7$) receberam administração intravenosa de (i) um anticorpo IgG de controle, (ii) o anticorpo antileucotoxinas SAN481-SYT*, (iii) SAN481-SYT* e o anticorpo anti-ClfA SAR114, (iv) SAR114 e o anticorpo anti-AT MEDI4893*, (v) SAN481-SYT* e MEDI4893* ou (vi) SAN481-SYT*, SAR114 e MEDI4893*, *i.e.*, MEDI6389. Todos os anticorpos foram administrados a 5 mg/kg, exceto o anticorpo controle, que foi administrado a 15 mg/kg. Os coelhos foram depois infectados 12 horas mais tarde com CA-MRSA SF8300 intravenosa.

[0152] A sobrevivência foi monitorizada ao longo de quatro dias após desafio, e a combinação de SAN481-SYT*, SAR114 e MEDI4893* (MEDI6389) ou MEDI4893* + SAN481_SYT* melhorou significativamente a sobrevivência em relação a c-IgG como mostrado por um teste estatístico Log Rank Mantel-Cox ($p = 0,0001$). Os resultados são mostrados na Figura 6. Notavelmente, nem o direcionamento de AT e ClfA nem o direcionamento das leucotoxinas é suficiente para proteção em

este modelo de bacteremia letal de coelho.

EXEMPLO 4

[0153] Este exemplo demonstra que a neutralização da toxina alfa (AT), fator de aglutinação A (ClfA) e leucotoxinas são todas necessárias para proteção *in vivo* no modelo de infecção da corrente sanguínea de coelho.

[0154] Em estas experiências, coelhos fêmeas com 3 meses de idade (n = 12) receberam administração intravenosa de 15 mg/kg de (i) um anticorpo IgG de controle, (ii) o anticorpo antileucotoxinas SAN481-SYT*, (iii) o anticorpo anti-ClfA SAR114 e o anticorpo anti-AT MEDI4893*, (iv) SAN481-SYT* e MEDI4893* ou (vi) SAN481-SYT*, SAR114 e MEDI4893*, *i.e.*, MEDI6389. Os coelhos foram depois infectados 12 horas mais tarde com HA-MRSA NRS382 ou CA-MRSA SF8300 intravenosa.

[0155] A sobrevivência foi monitorizada ao longo de quatro dias após desafio, e os resultados são mostrados na Figura 7. A combinação de SAN481-SYT*, SAR114 e MEDI4893* (MEDI6389) ou MEDI4893* + SAN481_SYT* melhorou significativamente a sobrevivência em relação a c-IgG como mostrado por um teste estatístico Log Rank Mantel-Cox ($p = 0,0015$ para NRS382 e $p = 0,0001$ para SF8300) foi mais eficaz no aumento da sobrevivência em resultado com as bactérias HA-MRSA NRS382 ou CA-MRSA SF8300.

EXEMPLO 5

[0156] Este exemplo demonstra que uma combinação de anticorpos que se ligam à toxina alfa (AT), fator de aglutinação A (ClfA) e leucotoxinas (MEDI6389) melhora a cicatrização de feridas resultando de infecções bacterianas mistas em um modelo de dermonecrose de camundongo diabético.

[0157] As infecções bacterianas mistas foram comparadas com infecções causadas por uma única bactéria em camundongos diabéticos

do tipo 2 com sete semanas (n = 10) (BKS.Cg-m +/+ *Lepr^{db}*). Os camundongos foram infectados intradermicamente com uma mistura de *S. aureus* (SA; 5e6 cfu), *Pseudomonas aeruginosa* (A; 5 cfu) e *Streptococcus pyogenes* (SP; 1e1 cfu) sob 50 µL em PBS ou com SA (5e6 cfu). Os tamanhos das lesões foram monitorizados ao longo de 43 dias. Os resultados, mostrados na Figura 8, demonstram que as infecções mistas resultam em atraso no tempo do fechamento de feridas em este modelo de dermonecrose de camundongo diabético em comparação com infecções que resultam somente de SA.

[0158] O efeito da combinação MEDI6389 (compreendendo mAb anti-AT MEDI4893*, mAb anti-ClfA SAR114 e mAb antileucotoxinas SAN481_SYT*) no tempo de fechamento das feridas e carga de bactérias foi examinado. Os camundongos foram passivamente imunizados intraperitonealmente com MEDI6389 (cada mAb a 15 mg/kg) ou IgG de controle c-IgG (15 mg/kg) e infectados intradermicamente 24 h depois com SA/SP/PA. As lesões foram seguidas ao longo de 43 dias, e as contagens de bactérias foram enumeradas nos dias 7, 14 e 21 nas lesões da pele. Os resultados, mostrados na Figura 9, demonstram que MED6389 aumenta a cicatrização de feridas e diminui as contagens de bactérias em lesões da pele com bactérias mistas em este modelo de dermonecrose de camundongo diabético.

EXEMPLO 6

[0159] Este exemplo proporciona os materiais e métodos usados nos Exemplos 7-11.

Modelo *In vivo* de Infecção Sistêmica

[0160] Culturas estoque congeladas da estirpe de *S. aureus* USA300 SF8300 foram descongeladas e diluídas até ao inóculo apropriado em PBS estéril, pH 7,2 (Invitrogen) (Hua *et al.*, *Antimicrob Agents Chemother.* 58: 1108-17 (2014)). Camundongos BKS.Cg-Dok7$+/+$Lepr,db>/J (*db/db*), C57BKS, C57BL/6J – STZ e C57BL/6J

fêmeas com 7 a 8 semanas de idade isentos de patógenos específicos (The Jackson Laboratory) foram brevemente anestesiados e mantidos em isoflurano a 3% (Butler Schein™ Animal Health) com oxigênio a 3 L/min e infectados intravenosamente. Todas as suspensões bacterianas foram administradas em 100 µL de PBS. Em experiências selecionadas, os anticorpos neutralizantes MEDI4893*, anti- α V β 6/8, anti- α V β 6, c-IgG (anticorpos da MedImmune), anti-TGF β (clone 1D11.16.8, BioXcell) ou IgG1 de camundongo de controle foram administrados (15 mg/kg) em 0,5 mL intraperitonealmente (IP) 24 horas antes da infecção. Rosiglitazona (Sigma-Aldrich) foi administrada (10 mg/kg) oralmente durante 7 dias. Os camundongos foram infectados 24 horas após a dose final de rosiglitazona. Os animais foram sacrificados com CO₂ nos pontos temporais indicados, e sangue, fígado ou rins foram coletados para análise. A carga bacteriana nos rins foi determinada por plaqueamento de diluições em série em TSA.

ELISA de NET

[0161] Para medir os NET, um híbrido de 2 estojos de ELISA diferentes foi usado. As placas foram inicialmente revestidas com anticorpo de captura antielastase (R&D Systems). Amostras de soro frescas foram adicionadas aos poços revestidos, depois incubadas e lavadas. Depois, anticorpo anti-DNA-POD (Roche) foi usado para detectar o DNA nas proteínas capturadas nos poços. As placas foram desenvolvidas com solução ABTS e solução de paragem ABTS. As absorvâncias foram medidas a 405 nm em um leitor de placas usando *software* SoftMax Pro.

Purificação de HDN e LDN

[0162] Os neutrófilos de elevada e baixa densidade (HDN e LDN) foram isolados do sangue total. Após sacrifício, o sangue foi coletado e coberto com histopaque 1077 (Sigma-Aldrich). As células foram separadas por centrifugação (500 g, 30 minutos). A fração inferior foi tratada

com tampão de lise ACK (Thermo Fisher Scientific) para remover glóbulos vermelhos dos neutrófilos de elevada densidade. A fração superior (PBMC) foi lavada 2x com PBS e os neutrófilos de baixa densidade foram isolados com o Estoque de Enriquecimento de Neutrófilos de Camundongo EasySep (Stemcell Technologies). As populações de células purificadas foram lisadas para análise de proteínas ou RNA.

Citometria de Fluxo

[0163] Tanto o sangue total como as células purificadas de baixa densidade foram lavadas duas vezes em tampão de FACs resfriado em gelo (PBS com soro fetal bovino a 5% e azida de sódio a 0,1%). Os receptores Fc foram bloqueados com CD16/CD32 anticamundongo (eBioscience), e as células foram coradas com anticorpos contra CD45 de camundongo (conjugado com PE, clone FA-11), CD11c (conjugado com APC-Cy5.5 ou FITC, clone N418), CD11b (conjugado com BV605, clone M1/70), Ly6-G (conjugado com BV421 ou PE-Cy7, clone 1A8) e Ly6-C. As células foram visualizadas usando o Citômetro de Fluxo LSR II (BD Biosciences) e analisadas com FlowJo. Uma concentração conhecida de esférulas de contagem (Bangs Laboratories) foi adicionada a cada amostra para calcular o número de células.

Transferência de Western

[0164] As células foram lisadas com tampão Ripa (ThermoFisher Scientific) contendo inibidor de protease completo (Sigma) e congeladas. Em experiências selecionadas, o IP3R foi imunoprecipitado usando anti-IP3R (cat da Abcam c# ab5804) e o estoque de imunoprecipitação de proteína G Dynabeads (ThermoFisher Scientific). Quantidades iguais de proteína foram separadas em géis NuPage de bis-Tris a 4-12% e transferidas para membranas de PVDF (ThermoFisher Scientific). A imunodeteção foi realizada usando anti-H3Cit (cat da Abcam # ab5103), antilactoferrina (cat da Abcam # ab77705), anti-MMP9 (cat da Abcam # ab38898), anti-IP3R (cat da Abcam # ab5804), anti-P-Ser/Thr (cat da

Abcam # ab17464) e antiactina (cat da Sigma # A3854). As proteínas foram visualizadas com o sistema de visualização Odyssey (Li-COR).

EXEMPLO 7

[0165] Este exemplo demonstra que níveis elevados de glucose se correlacionam com infecções mais graves por *S. aureus*.

[0166] Dois modelos de diabetes murina, induzida por STZ e *db/db*, foram usados para estudar o efeito da diabetes na resposta sistêmica à infecção sistêmica com *S. aureus*. Em cada modelo, os camundongos diabéticos tinham um nível de glucose não em jejum maior do que 450 dg/mL, enquanto os níveis de controle não diabéticos eram mais baixos do que 200 dg/mL. Os camundongos foram infectados com 5×10^7 CFU de *S. aureus* (USA300, SF8300). As CFU foram coletadas do rim 48 horas pós-infecção, e a mortalidade foi monitorizada durante 14 dias. Foi observada mortalidade aumentada em ambos os modelos STZ ($P = 0,0011$) e *db/db* ($P = 0,0241$) em comparação com o controle não diabético (FIGs. 11A e 11B). De nota, isto não se correlacionou com uma diferença nas CFU bacterianas recuperadas dos rins 48 horas pós-infecção (FIGs. 11C e 11D). Para confirmar que a mortalidade aumentada foi uma consequência de glucose elevada no hospedeiro diabético, os camundongos foram tratados com Rosiglitazona durante 1 semana antes da infecção para reduzir os níveis de glucose circulante (FIG. 11E). A rosiglitazona reduziu significativamente a mortalidade ($P = 0,0041$) após infecção com *S. aureus*, no entanto, a carga bacteriana no rim não foi afetada (FIGs. 11F e 11G).

[0167] É notável que nenhum defeito de depuração tenha sido observado nos camundongos diabéticos em comparação com os controles não diabéticos. Isto destaca a contribuição da inflamação excessiva ou resposta exagerada do hospedeiro para o aumento na mortalidade.

EXEMPLO 8

[0168] Este exemplo demonstra que ocorre NETose intensificada

em camundongos diabéticos.

[0169] Os neutrófilos em um hospedeiro diabético, ou na presença de níveis elevados de glucose, estão crescentemente propensos a NETose. Na população diabética foi mostrado que a liberação de NET prejudica a cicatrização de feridas em camundongos, e a presença de NET no soro se correlaciona com feridas que não cicatrizam em pacientes (Fadini, G. P. *et al.*, *Diabetes* 65: 1061-1071 (2016) e Wong, S. L. *et al.*, *Nat Med* 21: 815-819 (2015)). Os neutrófilos também liberam NET em resposta à infecção bacteriana, portanto foi colocada a hipótese de que a infecção por *S. aureus* resultaria em liberação sistêmica de NET aumentada em camundongos diabéticos. Complexos de elastase de neutrófilos e DNA de fita dupla são usados como uma medição da formação de NET e quantificados por ELISA (Fadini, G. P. *et al.*, *Diabetes* 65: 1061-1071 (2016)). Aumentos significativos ($P = 0,0003$) em NET séricos foram observados em camundongos diabéticos intravenosamente infectados com *S. aureus* durante 24 horas, enquanto aumentos significativos não foram observados em camundongos de controle não diabéticos (FIG. 12A). Os níveis de NET circulantes não foram diferentes em camundongos diabéticos e não diabéticos não infectados.

[0170] A toxina alfa (AT), uma vez liberada por *S. aureus*, se liga ao receptor ADAM10 na superfície das plaquetas. (Os neutrófilos não expressam ADAM10.) Em resposta à AT, as plaquetas se agregam e se ligam aos neutrófilos circulantes, resultando na ativação da sinalização mediada por caspase-1 e produção de NET (Powers, M. E. *et al.*, *Cell Host Microbe* 17:775-787 (2015) e Surewaard, B. G. J. *et al.* *Cell Host Microbe* 24: 271-284 (2018)). Consistente com estas descobertas, a neutralização da AT com o anticorpo monoclonal MEDI4893* reduziu significativamente o número de complexos NE-DNA no soro 48 horas pós-infecção em animais diabéticos (FIG. 12B). A produção de NET dependentes da AT aumentada foi confirmado 48 horas pós-infecção por

Histona H3 citrinulada (H3cit) aumentada no fígado como detectado por transferência de Western (FIG. 12C). Visualização de seções do fígado imuno-histoquimicamente coradas com anti-Ly6G para marcar neutrófilos e anti-H3cit mostrou também NET dependentes da AT aumentados (*i.e.*, menos coloração de anti-H3 cit no fígado de camundongos que receberam MEDI4893*) (Cohen TS, *et al.* *Staphylococcus aureus drives expansion of low density neutrophils in diabetic mice. JCI* 2019 EM IMPRESSÃO). A neutralização da AT aumentou significativamente a sobrevivência ($P = 0,0255$) de camundongos diabéticos infectados com *S. aureus* (FIG 12D). Estes dados indicam que a infecção sistêmica do hospedeiro diabético leva a um aumento dependente da AT nos NET circulantes que pode ser inibido por MEDI4893*.

EXEMPLO 9

[0171] Este exemplo demonstra que os neutrófilos de baixa densidade se correlacionam com NETose aumentada.

[0172] Similar aos macrófagos, os neutrófilos podem ser separados em diferentes classes com base nas características funcionais. Foi mostrado que as queimaduras graves alteram o fenótipo dos neutrófilos circulantes e alteram a expressão de TLR, produção de citocinas e sua capacidade de dirigirem a polarização de macrófagos (Tsuda, Y. *et al. Immunity* 21: 215-226 (2004)). Os neutrófilos são únicos na medida em que podem ser também separados pela densidade celular. Os neutrófilos de elevada densidade são células fagocíticas, antitumorais, enquanto os neutrófilos de baixa densidade são considerados células defeituosas fagocíticas pró-tumorais (Sagiv, J. Y. *et al. Cell Rep* 10: 562-573 (2015)). Embora Tsuda *et al.* não tivessem medido a densidade de neutrófilos isolados de camundongos suscetíveis à infecção por *S. aureus*, a forma dos núcleos em estes neutrófilos era similar à forma dos núcleos em células de baixa densidade (Sagiv, J. Y. *et al. Cell Rep* 10: 562-573 (2015) e Fridlender, Z. G. *et al. Cancer Cell* 16: 183-194

(2009)). As formas dos núcleos em neutrófilos retirados de camundongos não diabéticos e camundongos diabéticos tinham também diferenças marcantes. Os núcleos em células isoladas de camundongos não diabéticos eram multilobulares ou redondos, enquanto grandes números de células com núcleos em anel foram observados no sangue de camundongos diabéticos (Cohen TS, *et al.* Staphylococcus aureus drives expansion of low density neutrophils in diabetic mice. *JCI* 2019 EM IMPRESSÃO). Estas estruturas foram similares àquelas relatadas por Tsuda *et al.* como se encontrando nas células isoladas de camundongos suscetíveis a *S. aureus*, indicando que os camundongos diabéticos poderiam ter um número aumentado de neutrófilos de baixa densidade ou com deficiência imunitária.

[0173] A produção de hiper NET é uma característica de neutrófilos de baixa densidade (LDN), e foi colocada a hipótese de que números mais elevados de LDN em camundongos diabéticos infectados foram responsáveis pelos aumentos em NET (Villanueva, E. *et al.* *J Immunol* 187: 538-552 (2011)). O sangue foi coletado de camundongos C57BKS e *db/db* 48 horas pós-infecção IV e foi analisado quanto à presença de LDN. A quantidade de LDN no sangue de camundongos *db/db* infectados foi significativamente aumentada em comparação com camundongos *db/db* não infectados ($P < 0,0001$) bem como camundongos de controle C57BKS infectados ($P = 0,0003$) (FIG. 13A). Não foram observados aumentos em LDN em camundongos C57BKS (FIG. 13A). Foram observados aumentos similares em camundongos diabéticos induzidos por STZ e não em controles C57BL/6 (FIG. 14). A diminuição dos níveis de glucose com Rosiglitazona antes da infecção reduziu significativamente ($P = 0,0116$) os LDN 48 horas pós-infecção (FIG. 13B).

[0174] Para assegurar que as observações não foram baseadas em neutrófilos desgranulados, LDN e neutrófilos de elevada densidade (HDN) foram isolados do sangue de camundongos *db/db* infectados, e

as quantidades de lactoferrina (grânulos secundários) e MMP9 (grânulos terciários) foram medidas por transferência de Western. Quantidades equivalentes de ambos foram observadas, indicando que os LDNs têm conteúdo granular similar em comparação com os HDNs (Cohen TS, *et al.* *Staphylococcus aureus* drives expansion of low density neutrophils in diabetic mice. *JCI* 2019 EM IMPRESSÃO). A neutralização da AT preveniu a liberação sistêmica de NET, portanto, a influência da AT no número de LDN foi avaliada. Os LDN no sangue de camundongos *db/db* tratados 24 horas antes da infecção com c-IgG ou MEDI4893* e infectados com *S. aureus* durante 48 horas foram medidos. Uma redução significativa em LDN em camundongos profilaticamente tratados com MEDI4893* (FIG. 13C) foi observada, enquanto os números globais de neutrófilos não foram afetados (FIG. 13D), indicando que a AT contribui para o aumento nos LDN.

[0175] Estes dados indicam que os LDN contribuem para a patologia associada à infecção diabética por *S. aureus* e que estes LDN estão associados à liberação excessiva de NET tanto no fígado, um órgão crítico importante das infecções sistêmicas, como sistemicamente no sangue. Além disso, MEDI4893* reduz os LDN em camundongos diabéticos.

EXEMPLO 10

[0176] Este exemplo demonstra que TGF β dirige a expansão de LDN.

[0177] TGF β foi implicado como um regulador central do fenótipo de neutrófilos e, em modelos de tumor, pode dirigir uma troca fenotípica de neutrófilos de elevada para baixa densidade (Sagiv, J. Y. *et al.* *Cell Rep* 10: 562-573 (2015) e Fridlender, Z. G. *et al.* *Cancer Cell* 16: 183-194 (2009)). Sagiv *et al.* demonstraram que a adição de TGF β ao sangue retirado de camundongos com tumor, não camundongos virgens, aumentará os números de LDN *in vitro* (*id.*). Este estudo foi repetido com

sangue de camundongos não diabéticos e diabéticos. A adição de TGF β ao sangue diabético aumentou significativamente ($P = 0,0021$) o número de LDN (FIG. 15A). O mesmo não foi observado no sangue não diabético. Com base em esta evidência *in vitro* demonstrando que TGF β pode aumentar os números de LDN foi testada a sua necessidade para sua indução por bloqueio *in vivo*. Camundongos diabéticos foram profilaticamente tratados com anticorpo neutralizante contra TGF β 24 horas antes da infecção com *S. aureus*. O número de LDN na corrente sanguínea foi significativamente reduzido ($P = 0,0003$) pela inibição de TGF β , enquanto os números de bactérias nos rins foram similares entre os grupos (FIGs. 15B e 15C). A sobrevivência foi significativamente melhorada ($P = 0,0072$) pela neutralização de TGF β (FIG. 15D). A visualização de NETs no fígado demonstrou uma perda de NETs quando TGF β foi neutralizado (Cohen TS, *et al.* Staphylococcus aureus drives expansion of low density neutrophils in diabetic mice. *JCI* 2019 EM IMPRESSÃO). Estes dados sugerem que a redução de LDN pelo bloqueio de TGF β pode promover a sobrevivência.

[0178] TGF β é secretado como uma proteína pró-forma (pró-TGF β) e requer clivagem para ser ativado. A ligação de pró-TGF β pela integrina $\alpha V\beta 8$ foi associada à sua ativação e prevenção de colite, e sua expressão em subconjuntos de células dendríticas e monócitos é aumentada em resposta à inflamação (Travis, M. A. *et al.* *Nature* 449: 361-365 (2007) e Kelly, A. *et al.* *J Exp Med*, doi: 10.1084/jem.20171491 (2018)). Para determinar se a infecção por *S. aureus* influencia a expressão da integrina $\alpha V\beta 8$, células imunitárias inatas foram isoladas do fígado e baço de camundongos C57BKS e *db/db* 24 horas pós-infecção, e a expressão de $\alpha V\beta 8$ foi analisada por citometria de fluxo. Os números de monócitos inflamatórios positivos para $\beta 8$ e células dendríticas aumentaram no fígado de camundongos *db/db*, não camundongos C57BKS, após infecção (FIG. 16A). Interessantemente, embora a expressão de

integrina tivesse aumentado na superfície dos monócitos, foi o número global de DC que aumentou, não a densidade de $\beta 8$ (FIG. 16B). Para demonstrar a relevância funcional de $\alpha V\beta 8$ em este modelo, os camundongos foram profilaticamente tratados com anticorpos neutralizando $\alpha V\beta 6/8$, $\alpha V\beta 6$ ou c-IgG e infectados com *S. aureus*. Quarenta e oito horas pós- infecção, os LDN foram significativamente diminuídos ($P = 0,0090$) na corrente sanguínea nos camundongos tratados com anticorpo neutralizante de $\alpha V\beta 6/8$ em comparação com c-IgG (FIG. 16C). A neutralização de $\alpha V\beta 6$ por si só não reduziu o número destas células. A inibição da integrina não afetou o número de bactérias nos rins 48 horas pós-infecção (FIG. 16D). A sobrevivência foi significativamente melhorada em camundongos tratados com anticorpo anti- $\alpha V\beta 6/8$ em comparação com camundongos tratados com c-IgG (FIG. 16E). Portanto, consistente com a neutralização direta de $TGF\beta$, o bloqueio da integrina responsável pela ativação desta via foi protetor em camundongos diabéticos.

[0179] Estes dados mostram que a neutralização de $\alpha V\beta 6/8$ ou $TGF\beta$ previne aumentos de LDN e reduz a mortalidade. Estes dados mostram também que as células dendríticas desempenham um papel central na patogênese da infecção diabética devido à sua capacidade de ativarem $TGF\beta$ e promoverem a expansão dos LDN.

EXEMPLO 11

[0180] Este exemplo demonstra que a AT dirige a ativação de $TGF\beta$.

[0181] Foi colocada a hipótese de que a AT estava influenciando os números de LDN por afetação da via de $TGF\beta$. Após sua ativação, o $TGF\beta$ se liga ao seu complexo receptor, ativa os fatores de transcrição SMAD e dirige a expressão de genes a jusante. Portanto, a ativação da sinalização SMAD é comumente usada como uma medida substituta

da ativação de TGF β . Os níveis de pSMAD foram analisados nos fígados de camundongos diabéticos e não diabéticos que foram infectados (24 horas) com *S. aureus*. Foi observado pSMAD significativamente aumentado nos fígados de camundongos diabéticos infectados em comparação com camundongos diabéticos virgens ($P < 0,0001$) e camundongos não diabéticos infectados ($P = 0,0338$) (FIG. 17A). Em camundongos diabéticos, MEDI4893* reduziu significativamente ($P < 0,0001$) os níveis de pSMAD no fígado, indicando que a AT estava contribuindo para a ativação da sinalização de TGF β (FIG. 17B). A neutralização da AT não alterou os números de células imunitárias inatas expressando $\alpha V\beta 8$ (FIG. 17C). Estes dados indicam que a AT influencia a ativação de TGF β através de um mecanismo que é independente da expressão de $\alpha V\beta 8$ em células imunitárias inatas. Conformemente, a neutralização da AT, que é um fator de virulência crítico de *S. aureus*, limita a ativação da sinalização de TGF β e, subsequentemente, reduz os números de LDN e liberação de NET.

[0182] Estes dados indicam que, ainda a se ligar a ADAM10 nas plaquetas, a AT pode atuar através de uma segunda via que altera o fenótipo dos neutrófilos e subsequente resposta à infecção por *S. aureus*. No hospedeiro diabético, a ativação da sinalização de TGF β dependente de AT dirige a expansão de LDN. Assim, a AT promove a expansão da população de LDN que libera NET espontaneamente e ativa as plaquetas, que podem se ligar aos e ativar os neutrófilos.

[0183] Todas as referências, incluindo publicações, pedidos de patente e patentes, citadas aqui são deste modo incorporadas por referência na mesma medida como se cada referência fosse individualmente e especificamente indicada como sendo incorporada por referência e fosse estabelecida em sua totalidade aqui.

[0184] O uso dos termos “um” e “uma” e “o/a” e “pelo menos um/uma” e referentes similares no contexto da descrição da invenção

(especialmente no contexto das seguintes reivindicações) é para ser interpretado como abrangendo tanto o singular como o plural, a não ser que de outro modo indicado aqui ou claramente contradito pelo contexto. O uso do termo “pelo menos um/uma” seguido por uma lista de um ou mais itens (por exemplo, “pelo menos um de A e B”) é para ser interpretado como significando um item selecionado dos itens listados (A ou B) ou qualquer combinação de dois ou mais dos itens listados (A e B), a não ser que de outro modo indicado aqui ou claramente contradito pelo contexto. Os termos “compreendendo”, “tendo”, “incluindo” e “contendo” são para ser interpretados como termos abertos (*i.e.*, significando “incluindo, mas não se limitando a”) a não ser que de outro modo notado. A recitação de gamas de valores aqui se destina meramente a servir como um método abreviado de se referir individualmente a cada valor separado residindo dentro da gama, a não ser que de outro modo indicado aqui, e cada valor separado é incorporado no relatório descritivo como se fosse individualmente recitado aqui. Todos os métodos descritos aqui podem ser realizados em qualquer ordem adequada a não ser que de outro modo indicado aqui ou de outro modo claramente contradito pelo contexto. O uso de qualquer um dos e todos os exemplos, ou linguagem exemplificativa (p. ex., “tal como”) proporcionada aqui, se destina meramente a esclarecer melhor a invenção e não coloca uma limitação no escopo da invenção a não ser que de outro modo reivindicado. Nenhuma linguagem no relatório descritivo deve ser interpretada como indicando qualquer elemento não reivindicado como essencial para a prática da invenção.

[0185] Modalidades preferenciais desta invenção são descritas aqui, incluindo o melhor modo conhecido aos inventores para levar a cabo a invenção. Variações dessas modalidades preferenciais podem se tornar aparentes aos peritos na técnica após leitura da descrição anterior. Os inventores esperam que os especialistas peritos empreguem

tais variações como apropriado, e os inventores pretendem que a invenção seja praticada de outro modo do que como especificamente descrito aqui. Conformemente, esta invenção inclui todas as modificações e equivalentes do assunto recitado nas reivindicações anexadas aqui como permitido pela lei aplicável. Além disso, qualquer combinação dos elementos acima descritos em todas suas variações possíveis é englobada pela invenção a não ser que de outro modo indicado aqui ou de outro modo claramente contradito pelo contexto.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de tratamento ou prevenção de uma infecção por *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) em um indivíduo, caracterizado por compreender a administração ao indivíduo de (a) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à toxina alfa (AT) de *S. aureus*, (b) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao fator de aglutinação A (ClfA) de *S. aureus*, e (c) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*.

2. Método de tratamento ou prevenção de uma infecção por *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) em um indivíduo, caracterizado por compreender a administração ao indivíduo de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* e (a) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à toxina alfa (AT) de *S. aureus* ou (b) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao fator de aglutinação A (ClfA) de *S. aureus*.

3. Composição, caracterizada por compreender (a) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus*, (b) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus*, e (c) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*.

4. Composição, caracterizada por compreender um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* e (a) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* ou (b) um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus*.

5. Composição, de acordo com a reivindicação 3 ou 4, caracterizada por ser para uso no tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo.

6. Anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à toxina alfa (AT) de *S. aureus*, caracterizado por ser para uso no tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo em combinação com um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* e um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*.

7. Anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus*, caracterizado por ser para uso no tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo em combinação com um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*.

8. Anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*, caracterizado por ser para uso no tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo em combinação com um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e/ou um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus*.

9. Uso da composição, como definida na reivindicação 3 ou 4, caracterizado por ser na preparação de um medicamento para o tratamento ou a prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo.

10. Uso de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à toxina alfa (AT) de *S. aureus*, caracterizado por

ser na preparação de um medicamento para o tratamento ou a prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo em combinação com um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* e um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*.

11. Uso de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus*, caracterizado por ser na preparação de um medicamento para o tratamento ou a prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo em combinação com um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*.

12. Uso de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*, caracterizado por ser na preparação de um medicamento para o tratamento ou a prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo em combinação com um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e/ou um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus*.

13. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* se ligar ao mesmo epitopo da AT de *S. aureus* que um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:19 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:33.

14. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* inibir competitivamente

a ligação de um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:19 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:33 à AT de *S. aureus*.

15. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma região de determinação da complementaridade (CDR) 1 da cadeia pesada variável (VH) compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:1, uma CDR2 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:2, uma CDR3 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:3, uma CDR1 da cadeia leve variável (VL) compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:10, uma CDR2 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:11 e uma CDR3 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:12.

16. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:19.

17. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:33.

18. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 17, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma cadeia

pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:47.

19. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 18, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:52.

20. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender CDR1 de VH, CDR2 de VH, CDR3 de VH, CDR1 de VL, CDR2 de VL e CDR3 de VL de MEDI4893.

21. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 20, caracterizado por as CDRs serem as CDRs definidas por Kabat, as CDRs definidas por Chothia ou as CDRs definidas por AbM.

22. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 17 e 19 a 21, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender ainda uma região constante da cadeia pesada.

23. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 22, caracterizado por a região constante da cadeia pesada ser selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia pesada IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂ de imunoglobulina humana.

24. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 22, caracterizado por a região constante da cadeia pesada ser uma região constante de IgG₁ humana.

25. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 18, 20 e 21, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender ainda uma região constante da cadeia leve.

26. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 25, caracterizado por a região constante da cadeia leve ser selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia leve IgG κ e IgG λ de imunoglobulina humana.

27. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 25, caracterizado por a região constante da cadeia leve ser uma região constante da cadeia leve de IgG κ humana.

28. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 27, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* ser um anticorpo IgG ou seu fragmento de ligação ao antígeno.

29. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 28, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma região Fc que foi manipulado para melhorar a meia-vida.

30. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 29, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma região Fc com uma mutação YTE.

31. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 30, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* ser um anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno.

32. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 31, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* ser um anticorpo de comprimento total.

33. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 31, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* ser um fragmento de ligação ao antígeno.

34. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 33, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* em que o fragmento de ligação ao antígeno compreende um Fab, Fab', F(ab')₂, Fv de cadeia simples (scFv), Fv ligado por dissulfeto, intracorpo, IgGΔCH₂, minicorpo, F(ab')₃, tetracorpo, triacorpo, diacorpo, DVD-Ig, Fcab, mAb², (scFv)₂ ou scFv-Fc.

35. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 34, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* ter uma afinidade de 80-100 pM para a AT de *S. aureus*.

36. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindi-

cações 1 a 35, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* se ligar ao mesmo epitopo do ClfA de *S. aureus* que um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:20 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:34.

37. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 36, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* inibir competitivamente a ligação de um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:20 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:34 ao ClfA de *S. aureus*.

38. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 37, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender uma CDR1 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:4, uma CDR2 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:5, uma CDR3 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:6, uma CDR1 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:13, uma CDR2 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:14 e uma CDR3 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:15.

39. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 38, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:20.

40. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de li-

gação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 39, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao de ClfA de *S. aureus* compreender uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:34.

41. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 40, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender um domínio constante da cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de CSYHLC (SEQ ID NO:55).

42. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 41, caracterizado por o referido domínio constante da cadeia pesada compreender a sequência de aminoácidos de MHEACSYHLCQKSLSL (SEQ ID NO:56).

43. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 42, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:49.

44. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 43, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:53.

45. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindi-

cações 1 a 44, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender a CDR1 de VH, CDR2 de VH, CDR3 de VH, CDR1 de VL, CDR2 de VL e CDR3 de VL de SAR114-N3Y.

46. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 35, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender a CDR1 de VH, CDR2 de VH, CDR3 de VH, CDR1 de VL, CDR2 de VL e CDR3 de VL de 11H10, SAR72, SAR80, SAR113, SAR132, SAR352, SAR372, SAR510, SAR547, SAS1, SAS19 ou SAS203.

47. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 45 ou 46, caracterizado por as CDRs serem as CDRs definidas por Kabat, as CDRs definidas por Chothia ou as CDRs definidas por AbM.

48. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 35 ou 46, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender uma VH e uma VL, em que a VH compreende a sequência de aminoácidos estabelecida em qualquer uma de SEQ ID NOs:21-31 e 68.

49. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 35 ou 46, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender uma VH e uma VL, em que a VL compreende a sequência de aminoácidos estabelecida em qualquer uma de SEQ ID NOs: 35-45 e 69.

50. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindi-

cações 1 a 35, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender sequências de VH e VL compreendendo as sequências de aminoácidos estabelecidas em (a) SEQ ID NOs:21 e 35, respectivamente, (b) SEQ ID NOs:22 e 36, respectivamente, (c) SEQ ID NOs:23 e 37, respectivamente, (d) SEQ ID NOs:24 e 38, respectivamente, (e) SEQ ID NOs:25 e 39, respectivamente, (f) SEQ ID NOs:26 e 40, respectivamente, (g) SEQ ID NOs:27 e 41, respectivamente, (h) SEQ ID NOs:28 e 42, respectivamente, (i) SEQ ID NOs:29 e 43, respectivamente, (j) SEQ ID NOs:30 e 44, respectivamente, (k) SEQ ID NOs:31 e 45, respectivamente, ou (l) SEQ ID NOs:68 e 69.

51. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 40 e 44 a 50, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender ainda uma região constante da cadeia pesada.

52. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 51, caracterizado por a região constante da cadeia pesada ser selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia pesada de IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂ de imunoglobulina humana.

53. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 51, caracterizado por a região constante da cadeia pesada ser uma região constante de IgG₁ humana.

54. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 43 e 45 a 53, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender ainda uma região constante da cadeia leve.

55. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 54, caracterizado por a região constante da cadeia leve ser selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia leve IgG κ e IgG λ de imunoglobulina humana.

56. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 54, caracterizado por a região constante da cadeia leve ser uma região constante da cadeia leve de IgG κ humana.

57. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 56, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender uma mutação que prolonga a meia-vida em relação ao mesmo anticorpo sem a mutação em camundongos com FcRn humano.

58. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 57, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* compreender uma mutação que prolonga a meia-vida em relação ao mesmo anticorpo sem a mutação, e em que a mutação não inibe a atividade de OPK em relação ao mesmo anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno a mutação.

59. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 58, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* ser um anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno.

60. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 59, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação

ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* ser um anticorpo de comprimento total.

61. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 59, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* ser um fragmento de ligação ao antígeno.

62. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 61, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* em que o fragmento de ligação ao antígeno compreende um Fab, Fab', F(ab')₂, Fv de cadeia simples (scFv), Fv ligado por dissulfeto, intracorpo, IgGΔCH₂, minicorpo, F(ab')₃, tetracorpo, triacorpo, diacorpo, DVD-Ig, Fcab, mAb², (scFv)₂ ou scFv-Fc.

63. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 62, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* ter IC50s para ClfA001, ClfA002 e ClfA004 em um ensaio de inibição da ligação de fibrinogênio que estão dentro de 2 µg/mL umas das outras.

64. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 63, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* ter IC50s para ClfA001, ClfA002 e ClfA004 em um ensaio de inibição da ligação de fibrinogênio que estão todas entre 1 µg/mL e 5 µg/mL.

65. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 64, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de liga-

ção ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* ter afinidades de ligação (K_D) para ClfA001, ClfA002 e ClfA004 que estão todas entre 200 e 350 pM.

66. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 65, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* ter afinidades de ligação (K_D) de menos do que 1 nM para todos os genótipos de ClfA.

67. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 66, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* ter uma pureza de monômero que diminui por não mais do que 5% após exposição do anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno a luz branca convencional a 2 kLux/h a 23 °C durante 14 dias.

68. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 67, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* se ligar a LukF, LukD e/ou HlgB, e/ou em que o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno neutraliza LukF, LukD e/ou HlgB.

69. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 68, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* se ligar a LukF, LukD e HlgB, e/ou em que o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno neutraliza LukF, LukD e HlgB.

70. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindi-

cações 1 a 69, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* se ligar ao mesmo epitopo da leucotoxina de *S. aureus* que um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:32 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:46.

71. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 70, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* inibir competitivamente a ligação de um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:32 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:46 à leucotoxina de *S. aureus*.

72. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 71, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreende uma VHCDR1 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:7, uma VH CDR2 compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:8, uma CDR3 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:9, um CDR1 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:16, uma CDR2 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:17 e um CDR3 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:18.

73. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 72, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus*

compreender uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:32.

74. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 73, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreender uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:46.

75. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 74, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:50.

76. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 75, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreender uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:54.

77. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 71, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreender a CDR1 de VH, CDR2 de VH, CDR3 de VH, CDR1 de VL, CDR2 de VL e CDR3 de VL de SAN481-SYT.

78. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 77, caracterizado por as CDRs serem as CDRs definidas por Kabat, as CDRs definidas por Chothia ou as CDRs definidas por AbM.

79. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 74 e 76 a 78, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreender ainda uma região constante da cadeia pesada.

80. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 79, caracterizado por a região constante da cadeia pesada ser selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia pesada IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂ de imunoglobulina humana.

81. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 79, caracterizado por a região constante da cadeia pesada ser uma região constante de IgG₁ humana.

82. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 75 e 77 a 81, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga pelo menos a uma leucotoxina de *S. aureus* compreender ainda uma região constante da cadeia leve.

83. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 82, caracterizado por a região constante da cadeia leve ser selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia leve IgG_k e IgG_λ de imunoglobulina humana.

84. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 82, caracterizado por a região constante da cadeia leve ser uma região constante da cadeia leve IgG_k humana.

85. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de li-

gação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 84, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* ser um anticorpo IgG ou seu fragmento de ligação ao antígeno.

86. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 85, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreender uma região Fc que foi manipulada para melhorar a meia-vida.

87. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 86, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* compreender uma região Fc com uma mutação YTE.

88. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 87, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* ser um anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno.

89. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 88, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* ser um anticorpo de comprimento total.

90. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 88, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* ser um fragmento de ligação ao antígeno.

91. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 90, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus*, em que o fragmento de ligação ao antígeno compreende um Fab, Fab', F(ab')₂, Fv de cadeia simples (scFv), Fv ligado por dissulfeto, intracorpo, IgGΔCH2, minicorpo, F(ab')₃, tetracorpo, triacorpo, diacorpo, DVD-Ig, Fcab, mAb², (scFv)₂ ou scFv-Fc.

92. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 91, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* ter uma afinidade de menos do que 75 pM para LukF, LukD e HlgB de *S. aureus*.

93. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 92, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* ter afinidades de ligação similares para LukF, LukD e HlgB.

94. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 93, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser sépsis.

95. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 93, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser bacteremia.

96. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 93, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser pneumonia.

97. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 93, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser pneumonia em ICU.

98. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 93, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser uma infecção da pele ou tecido mole (SSTI).

99. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 93, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser uma infecção diabética dos membros inferiores.

100. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 93, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser uma úlcera do pé diabético (DFU).

101. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 100, caracterizado por a DFU não estar infectada.

102. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 100, caracterizado por a DFU estar infectada.

103. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 100, caracterizado por a DFU ser uma DFU de grau 1, 2 ou 3.

104. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 93, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser uma infecção dos ossos ou articulações.

105. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 93, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser uma infecção das articulações, uma infecção do dispositivo, uma infecção das feridas, uma infecção do local cirúrgico ou osteomielite.

106. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 105, caracterizado por o indivíduo ser um indivíduo cirúrgico.

107. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 106, caracterizado por a infecção por *S. aureus* compreender *S. aureus* resistente a antibióticos.

108. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 107, caracterizado por o indivíduo ter diabetes.

109. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 108, caracterizado por o indivíduo ser humano.

110. Método, composição, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 e 5 a 109, caracterizado por o tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* compreender inibição da aglutinação de *S. aureus*, neutralização de toxinas, indução da opsonofagocitose, inibição da ligação de fibrinogênio de *S. aureus*, inibição da aglutinação de *S. aureus*, inibição da formação de lesão tromboembólica, inibição da sépsis associada a *S. aureus* ou qualquer combinação dos anteriores.

111. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 6 a 8 e 10 a 110, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação

ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* serem administrados na mesma composição farmacêutica.

112. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 6 a 8 e 10 a 110, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* serem administrados nas composições farmacêuticas separadas.

113. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 6 a 8 e 10 a 110, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* serem administrados na mesma composição farmacêutica.

114. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 6 a 8 e 10 a 110, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* serem administrados nas composições farmacêuticas separadas.

115. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 6 a 8 e 10 a 110, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* serem administrados na mesma composição farmacêutica.

116. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 6 a

8 e 10 a 110, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* serem administrados nas composições farmacêuticas separadas.

117. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 112, 114 e 116, caracterizado por as composições farmacêuticas separadas serem administradas simultaneamente.

118. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 112, 114 e 116, caracterizado por as composições farmacêuticas separadas serem administradas sequencialmente.

119. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 6 a 8 e 10 a 110, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus*, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga ao ClfA de *S. aureus* e o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga a pelo menos uma leucotoxina de *S. aureus* serem administrados na mesma composição farmacêutica.

120. Método para o tratamento ou a prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo com diabetes, caracterizado por compreender a administração ao indivíduo de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus*.

121. Anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus*, caracterizado por ser para uso no tratamento ou prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo com diabetes.

122. Uso de um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao

antígeno que se liga à AT de *S. aureus*, caracterizado por ser na preparação de um medicamento para o tratamento ou a prevenção de uma infecção por *S. aureus* em um indivíduo com diabetes.

123. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 122, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* se ligar ao mesmo epitopo da AT de *S. aureus* que um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:19 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:33.

124. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 123, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* inibir competitivamente a ligação de um anticorpo compreendendo uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:19 e uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:33 à AT de *S. aureus*.

125. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 124, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma CDR1 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:1, uma CDR2 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:2, uma CDR3 de VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:3, uma CDR1 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:10, uma CDR2 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:11 e uma CDR3 de VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:12.

126. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a

125, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma VH compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:19.

127. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 126, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma VL compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:33.

128. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 127, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:47.

129. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 128, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO:52.

130. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 124, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender CDR1 de VH, CDR2 de VH, CDR3 de VH, CDR1 de VL, CDR2 de VL e CDR3 de VL de MEDI4893.

131. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 130, caracterizado por as CDRs serem as CDRs definidas por Kabat, as CDRs definidas por Chothia ou as CDR definidas por AbM.

132. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a

127 e 129 a 131, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender ainda uma região constante da cadeia pesada.

133. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 132, caracterizado por a região constante da cadeia pesada ser selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia pesada IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂ de imunoglobulina humana.

134. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 132, caracterizado por a região constante da cadeia pesada ser uma região constante de IgG₁ humana.

135. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 128 e 130 a 134, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender ainda uma região constante da cadeia leve.

136. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 135, caracterizado por a região constante da cadeia leve ser selecionada do grupo consistindo em regiões constantes da cadeia leve IgG_κ e IgG_λ de imunoglobulina humana.

137. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 135, caracterizado por a região constante da cadeia leve ser uma região constante da cadeia leve IgG_κ humana.

138. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 137, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antí-

geno que se liga à AT de *S. aureus* ser um anticorpo IgG ou seu fragmento de ligação ao antígeno.

139. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 138, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma região Fc que foi manipulada para melhorar a meia-vida.

140. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 139, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* compreender uma região Fc com uma mutação YTE.

141. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 140, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* ser um anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno.

142. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 141, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* ser um anticorpo de comprimento total.

143. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 141, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* ser um fragmento de ligação ao antígeno.

144. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 143, caracterizado por o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus*, em que o fragmento de ligação ao antígeno compreende um Fab, Fab', F(ab')₂, Fv de cadeia simples (scFv), Fv ligado por dissulfeto,

intracorpo, IgGΔCH2, minicorpo, F(ab')₃, tetracorpo, triacorpo, diacorpo, DVD-Ig, Fcab, mAb², (scFv)₂ ou scFv-Fc.

145. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 144, caracterizado por o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga à AT de *S. aureus* ter uma afinidade de 80-100 pM para a AT de *S aureus*.

146. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 145, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser sépsis.

147. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 145, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser bacteremia.

148. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 145, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser pneumonia.

149. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 145, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser pneumonia em ICU.

150. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 145, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser uma SSTI.

151. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 145, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser uma infecção diabética dos membros inferiores.

152. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 145, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser uma DFU.

153. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 152, caracterizado por a DFU não estar infectada.

154. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 152, caracterizado por a DFU estar infectada.

155. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com a reivindicação 154, caracterizado por a DFU ser uma DFU de grau 1, 2 ou 3.

156. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 145, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser uma infecção dos ossos ou articulações.

157. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 145, caracterizado por a infecção por *S. aureus* ser uma infecção das articulações, uma infecção do dispositivo, uma infecção das feridas, uma infecção do local cirúrgico ou osteomielite.

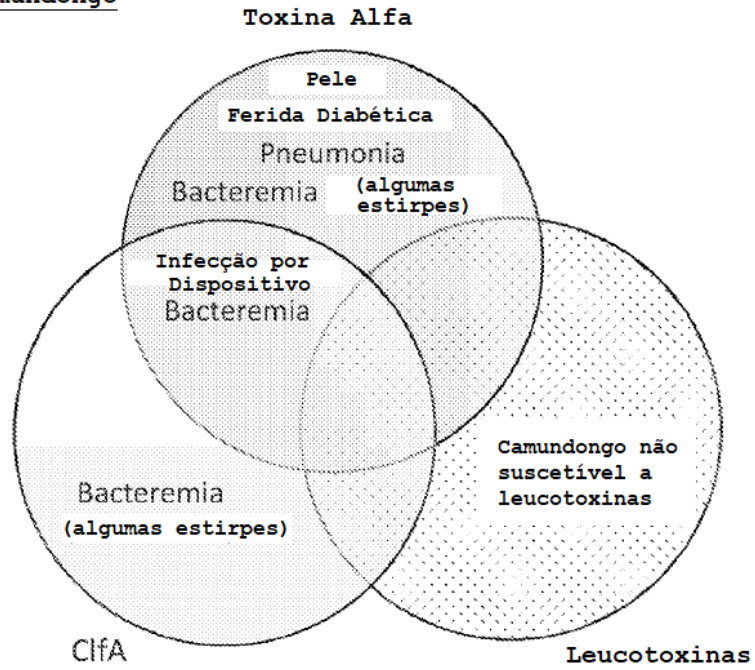
158. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 157, caracterizado por o indivíduo ser um indivíduo cirúrgico.

159. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 158, caracterizado por a infecção por *S. aureus* compreender *S. aureus* resistente a antibióticos.

160. Método, anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno, ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 120 a 159, caracterizado por o indivíduo ser humano.

Figura 1

Camundongo



Coelho

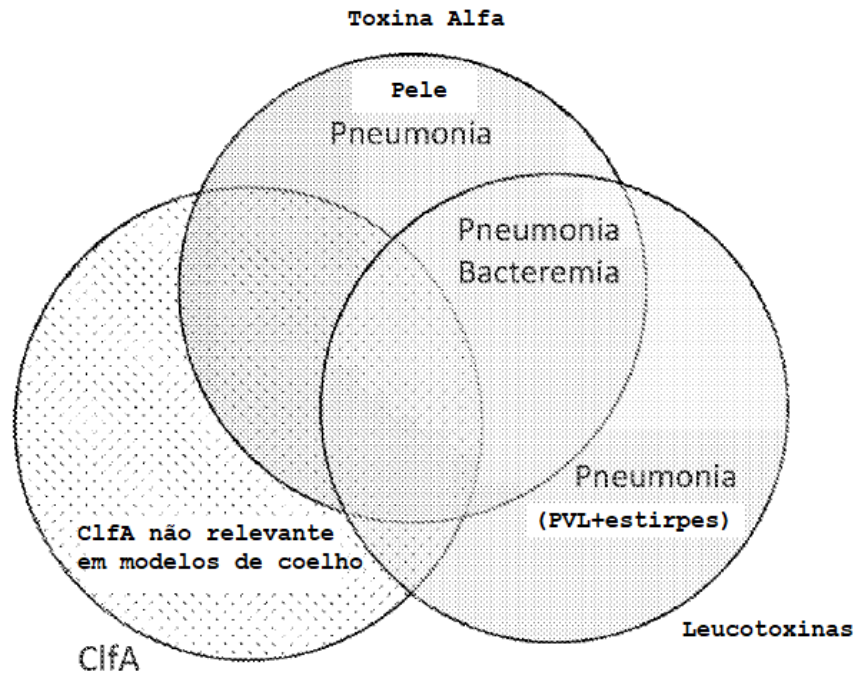


Figura 2

Hemólise de RBC

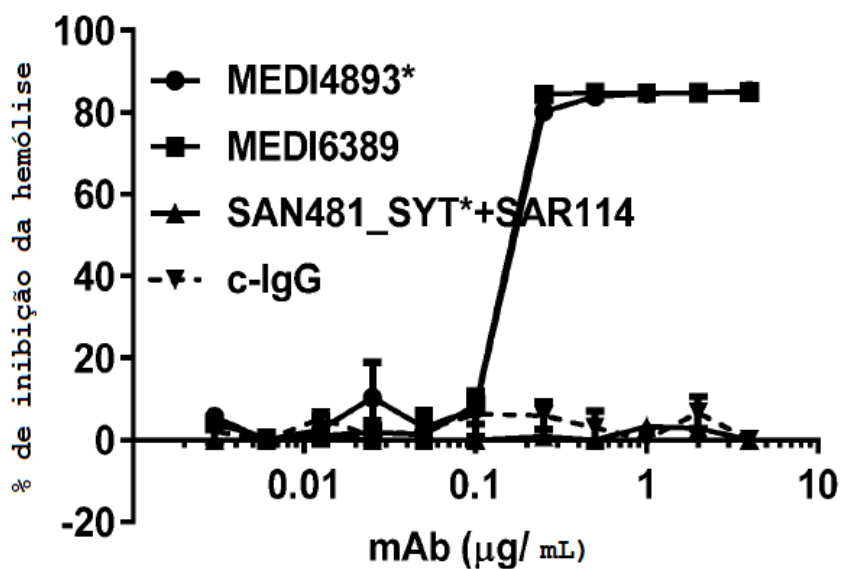


Figura 3

LukSF (100ng/ mL)

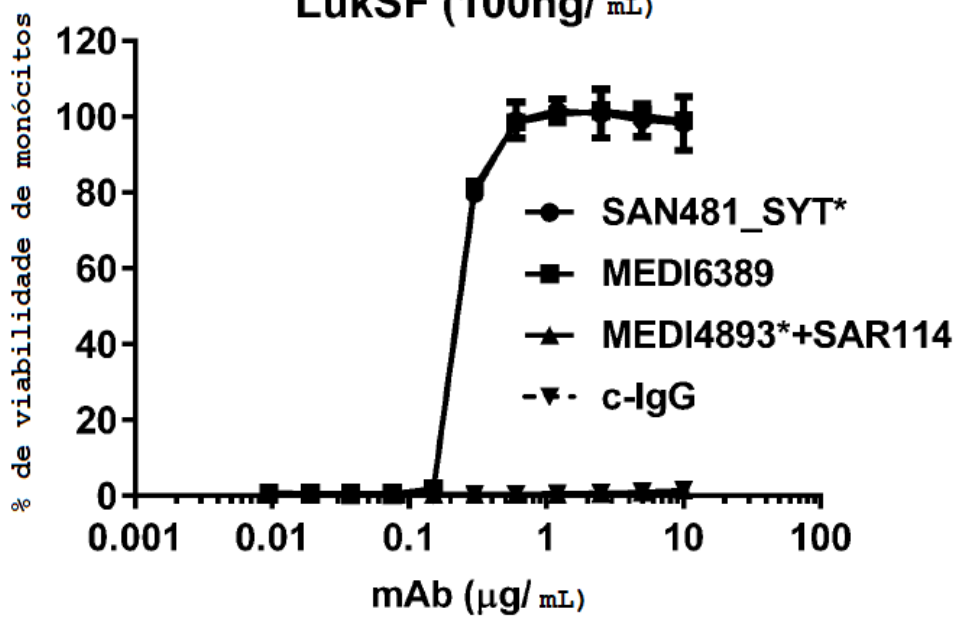


Figura 4

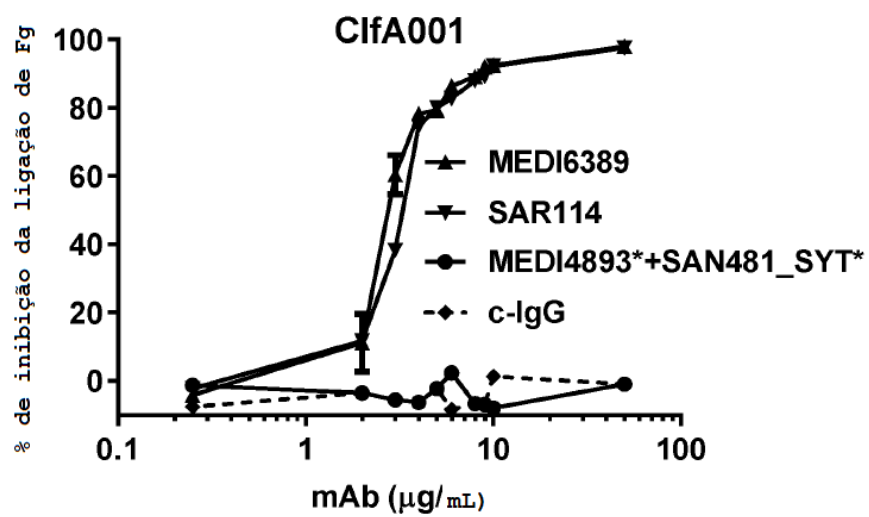


Figura 5

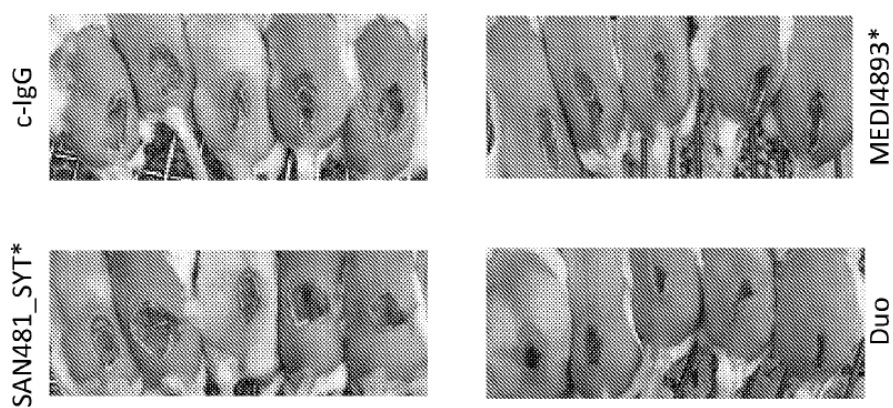
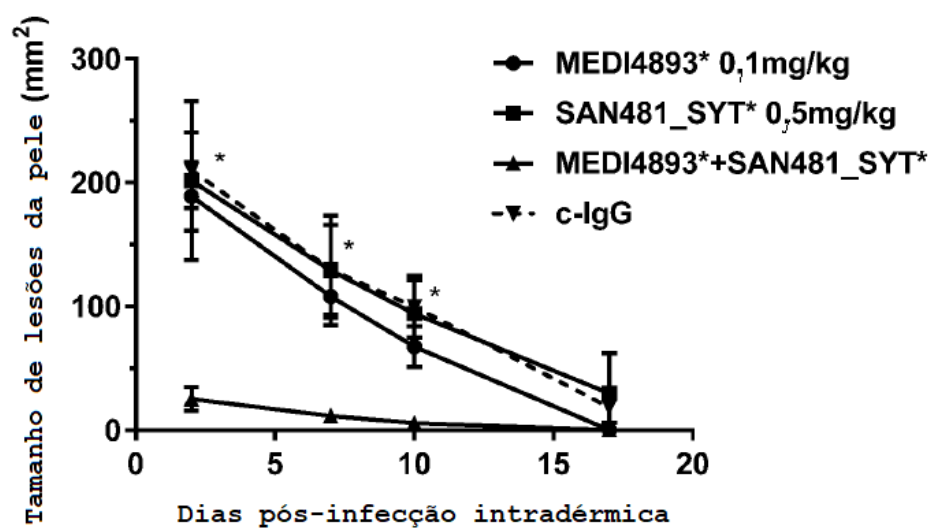


Figura 6

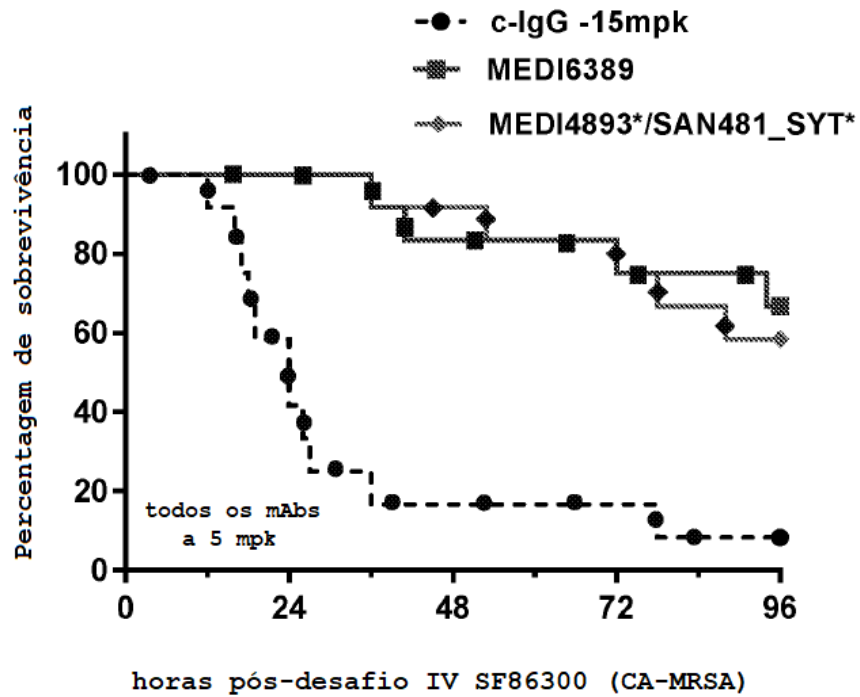
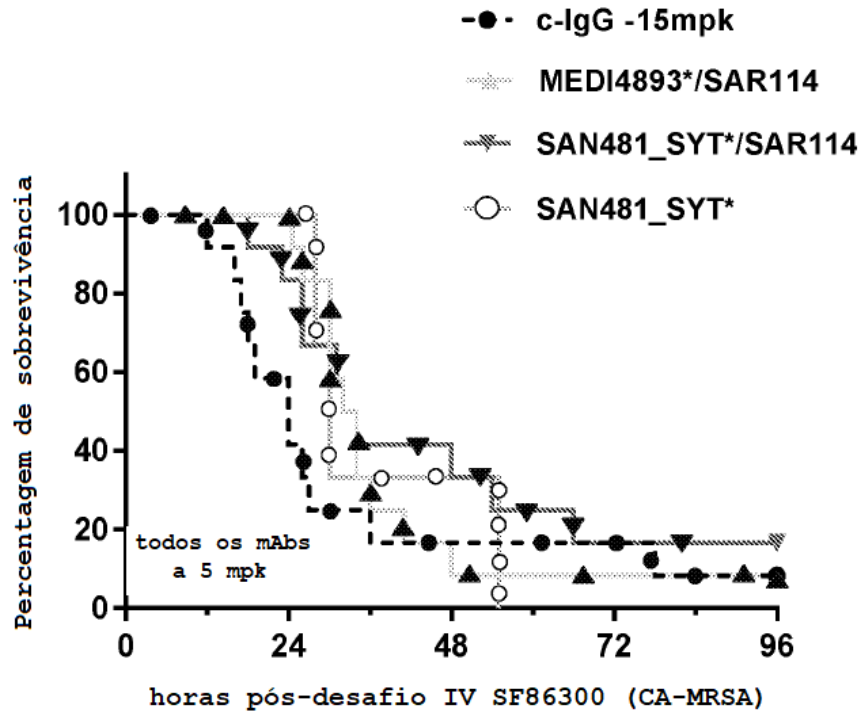


Figura 7

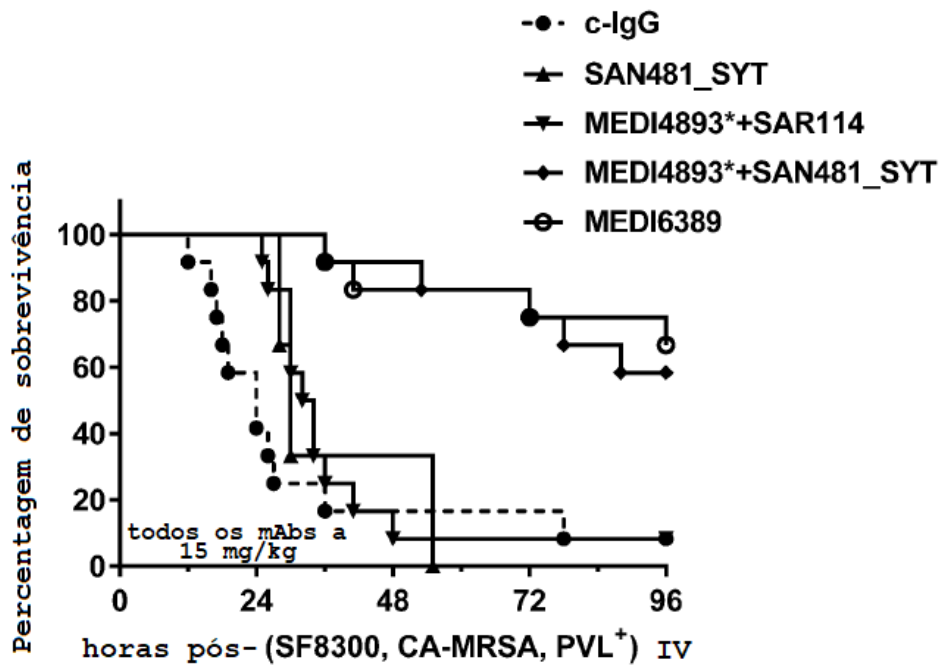
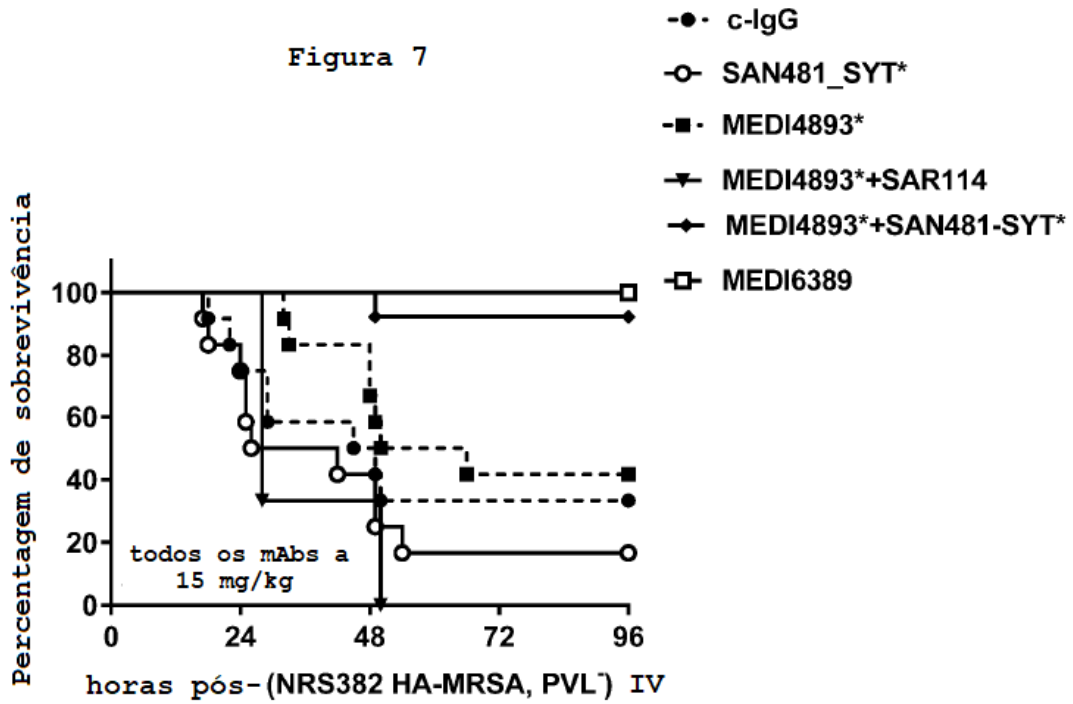
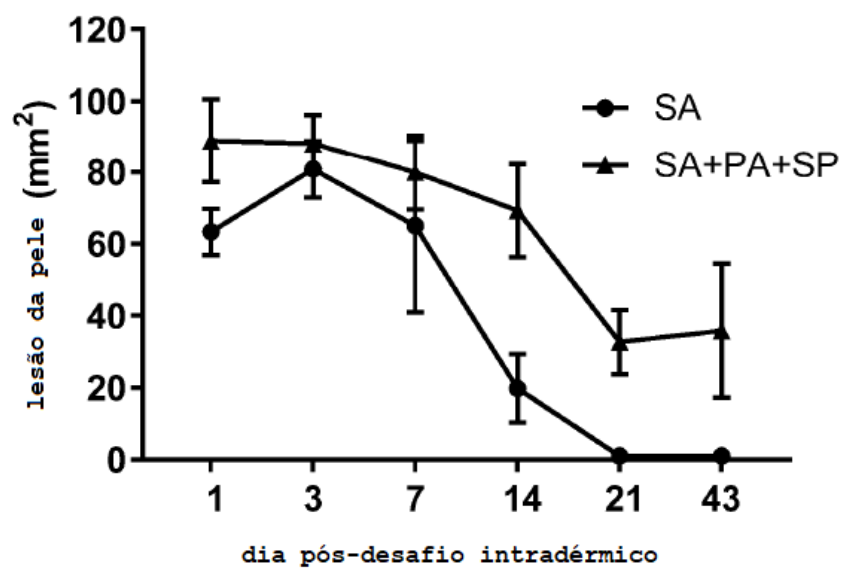
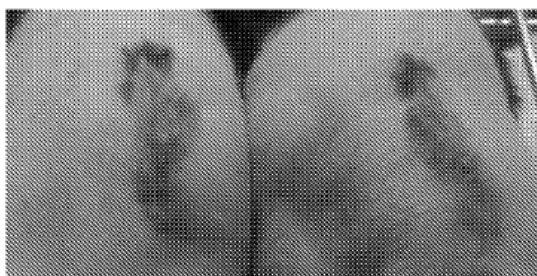


Figura 8



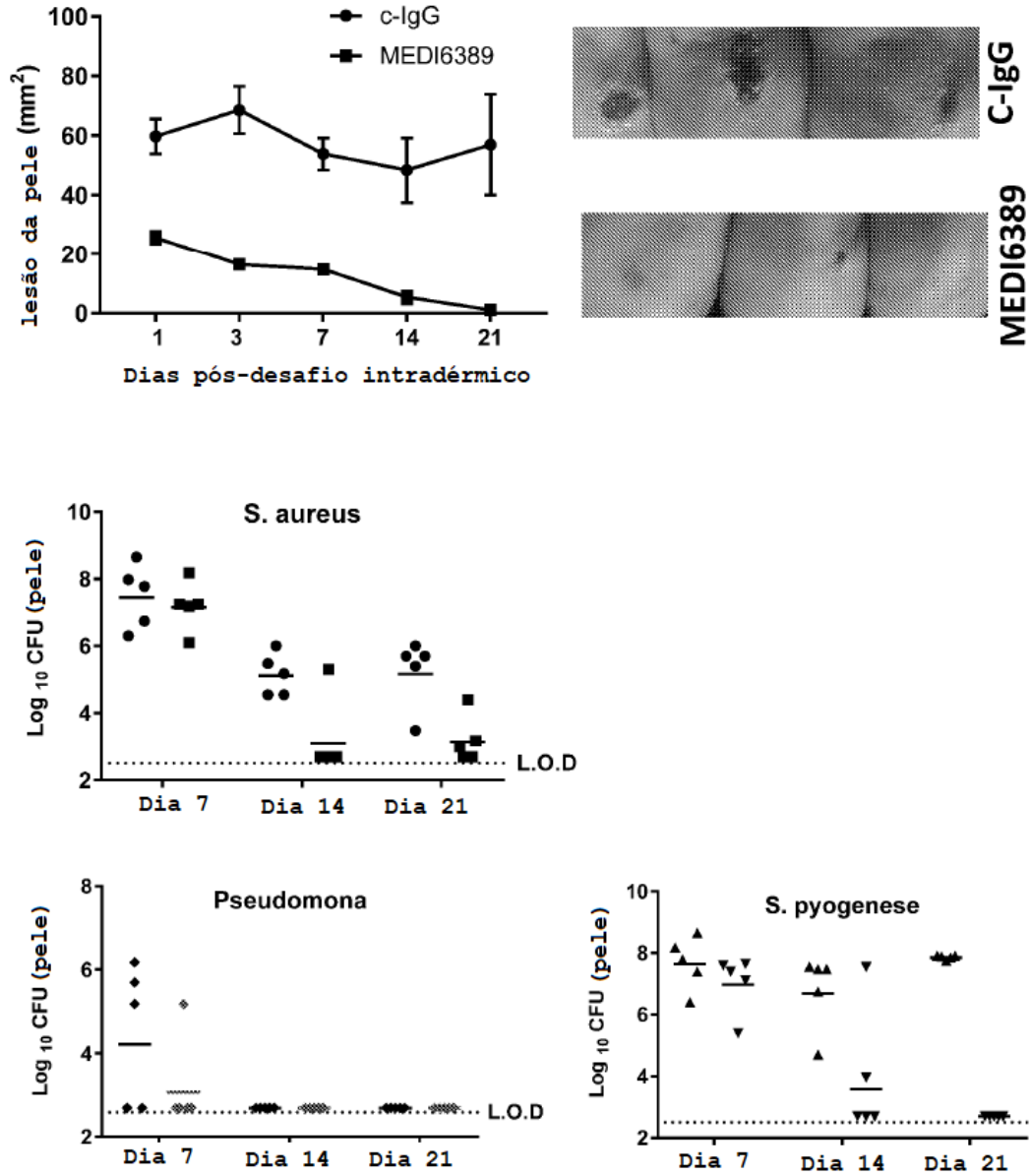
SA



SA+PA+SP



Figura 9



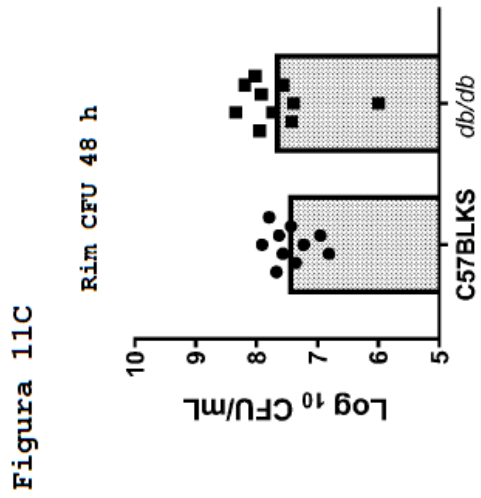
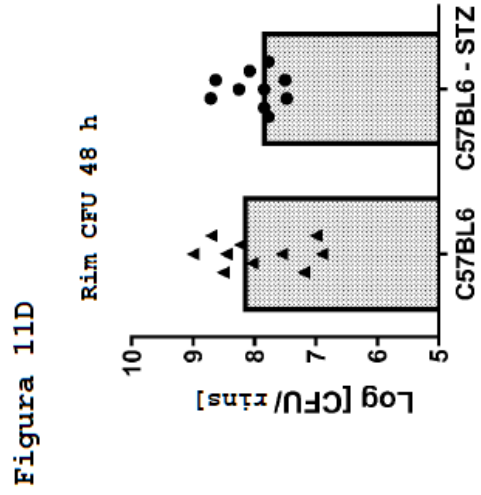
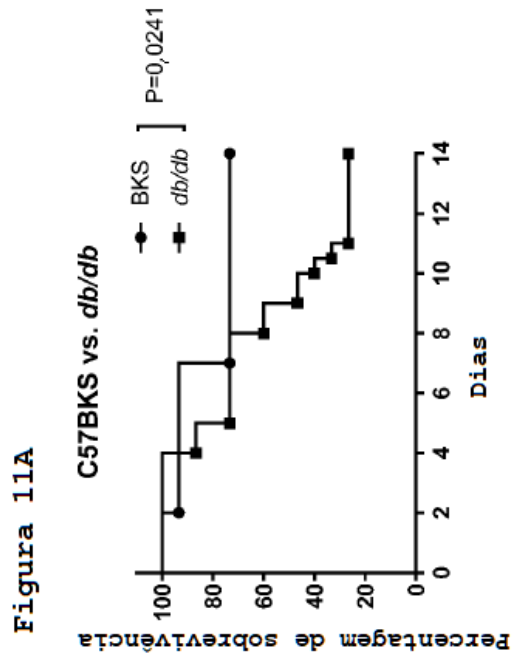
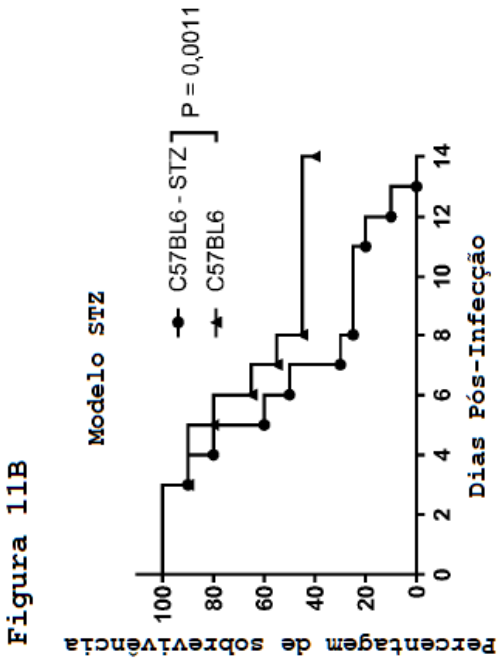


Figura 11E

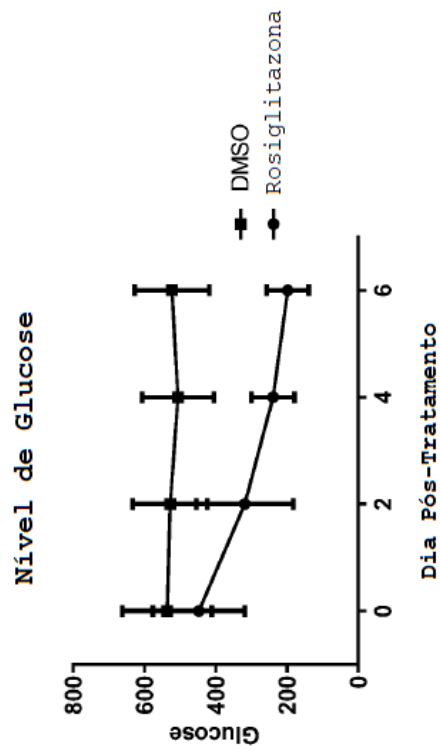


Figura 11F

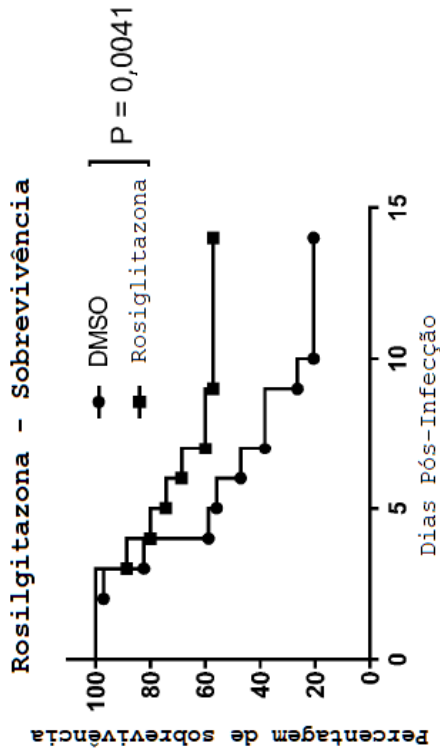


Figura 11G

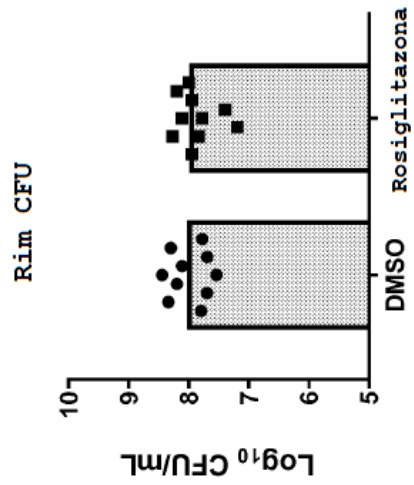


Figura 12A

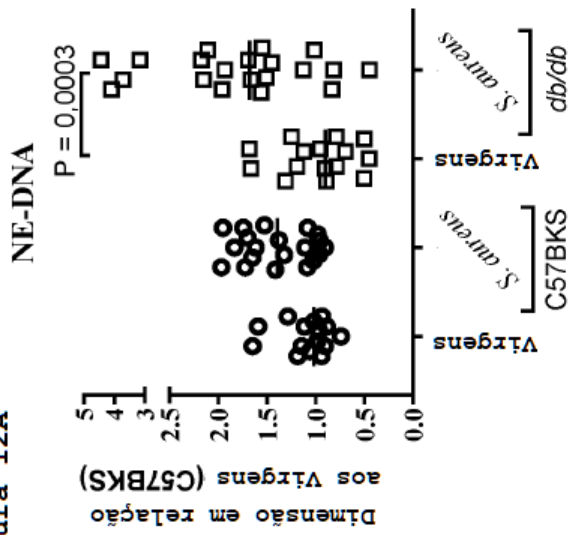


Figura 12B

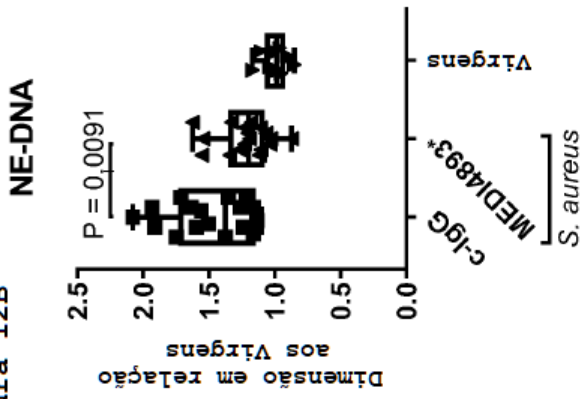


Figura 12C

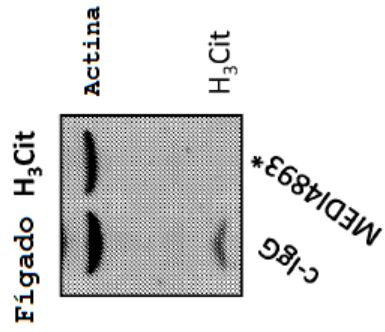
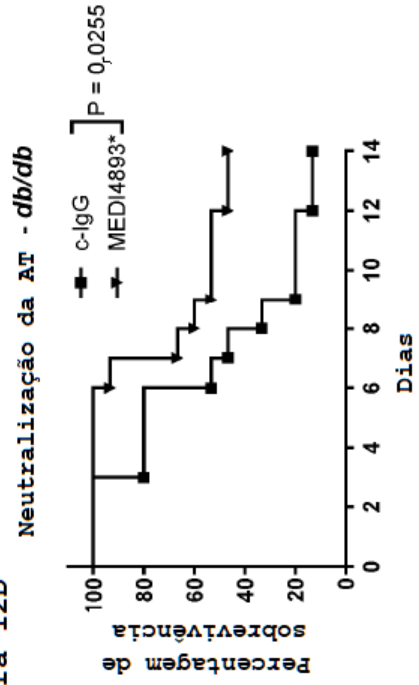


Figura 12D



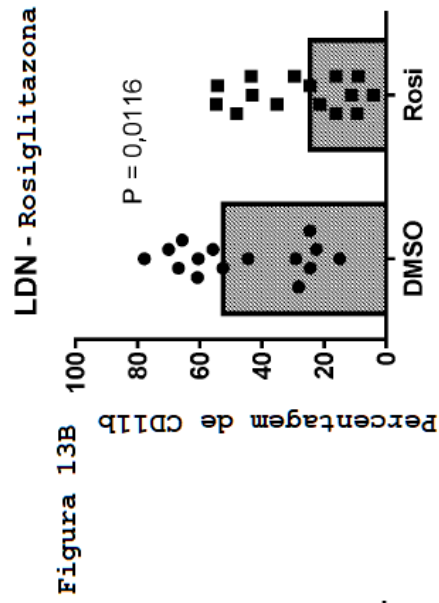


Figura 13B

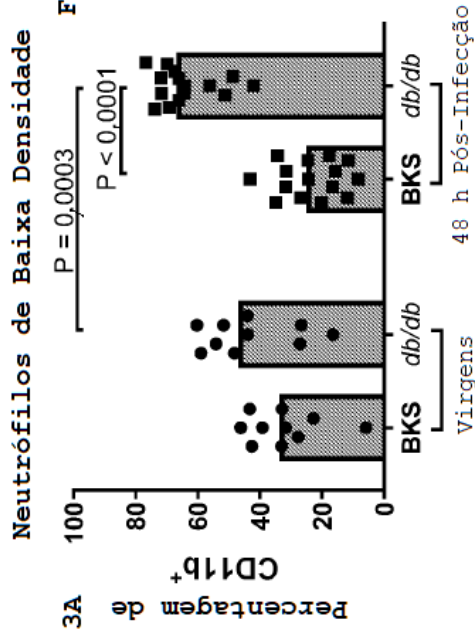


Figura 13A

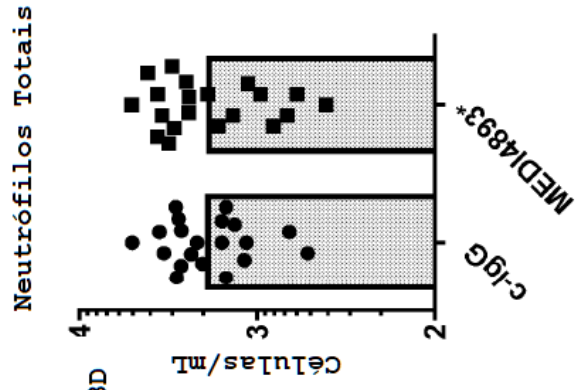


Figura 13D

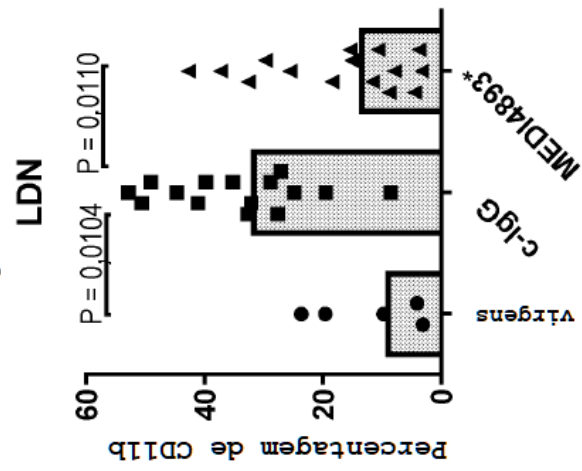


Figura 13C

Figura 14

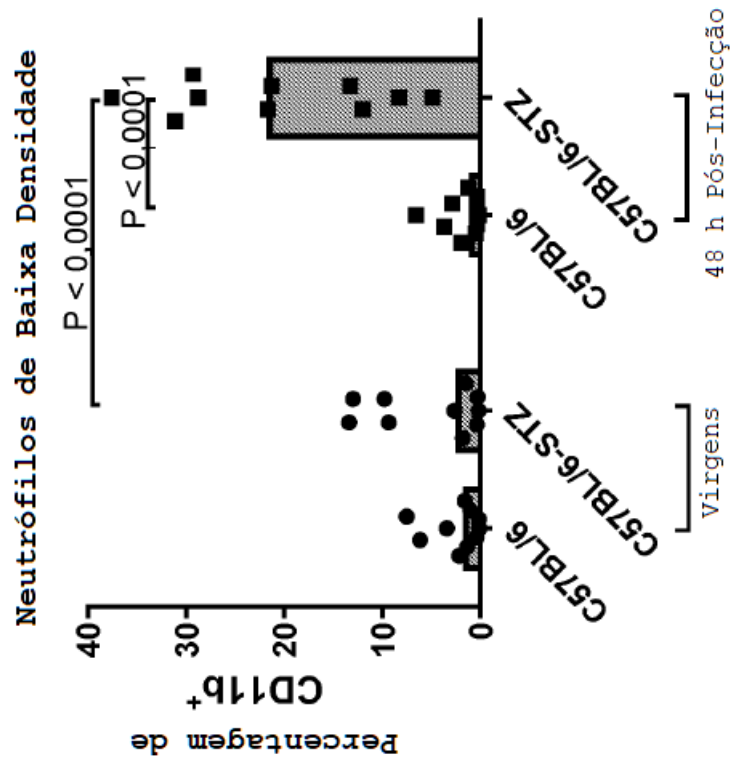
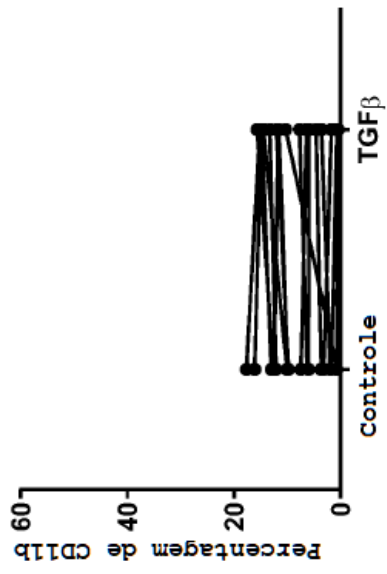


Figura 15A

LDN - C57BL/6



LDN - Db/Db

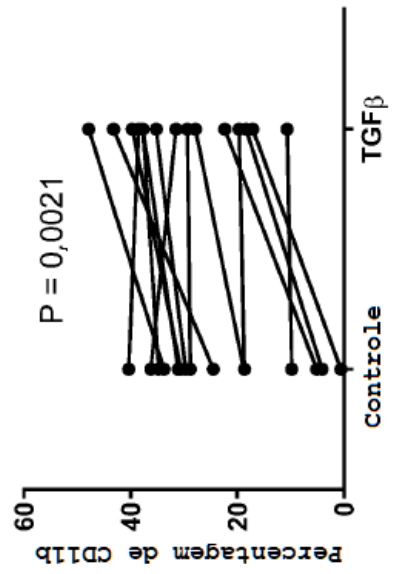


Figura 15B

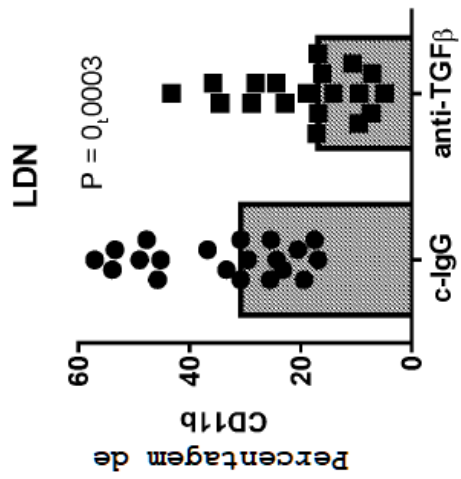


Figura 15C

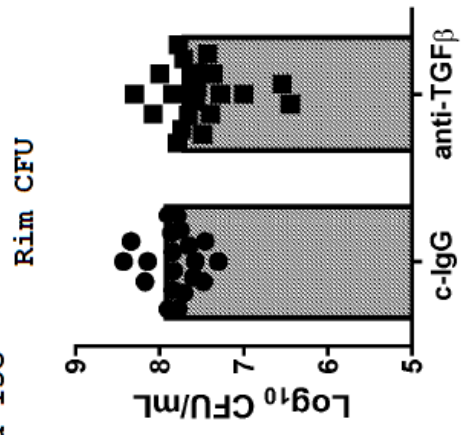
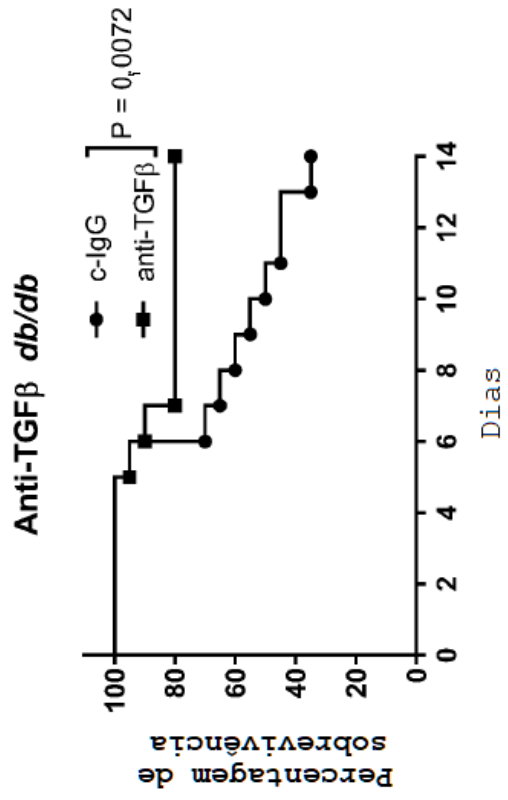


Figura 15D



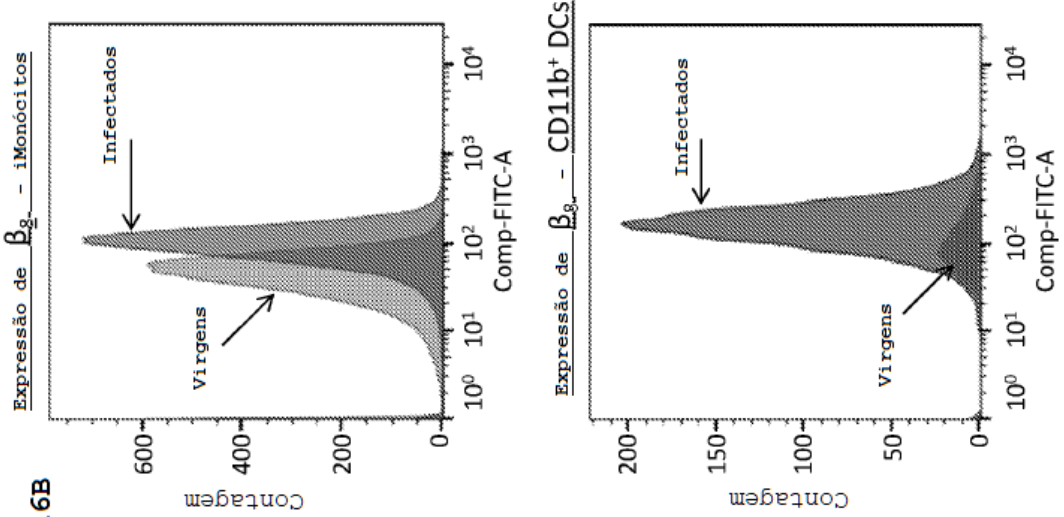


Figura 16B

Figura 16A

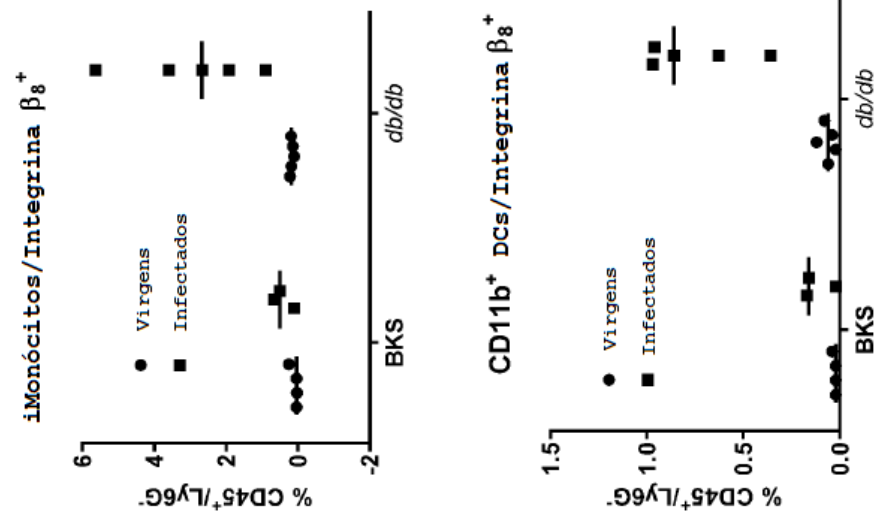


Figura 16C

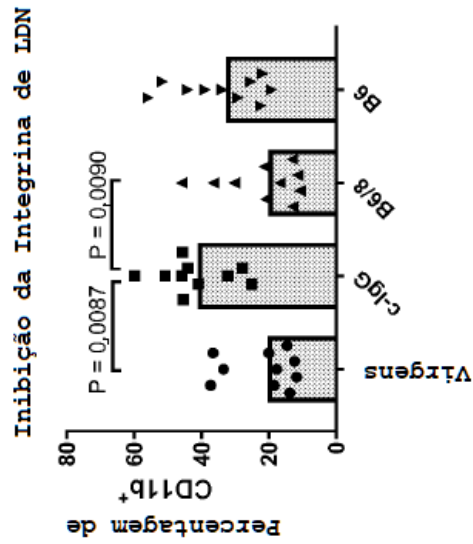


Figura 16D

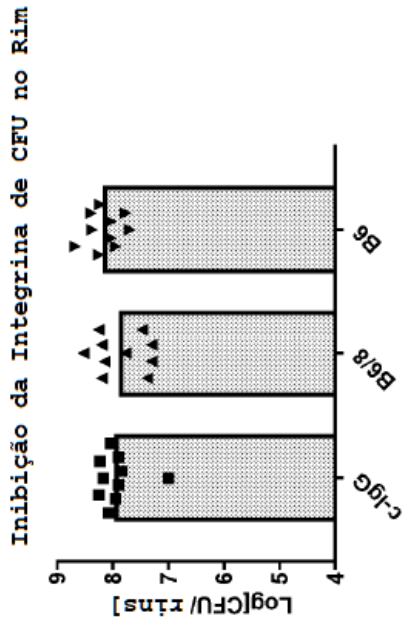


Figura 16E

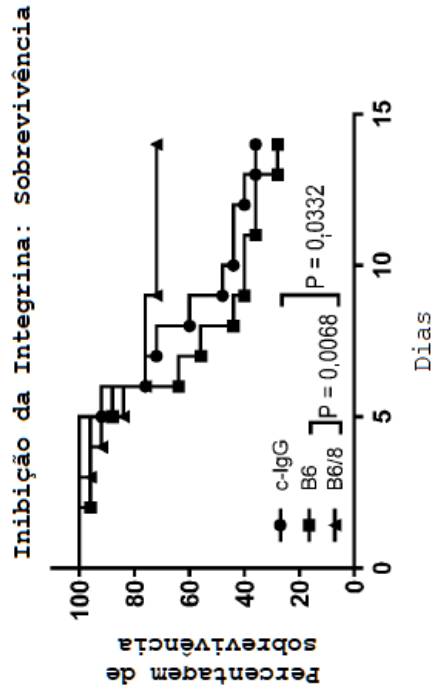


Figura 17A

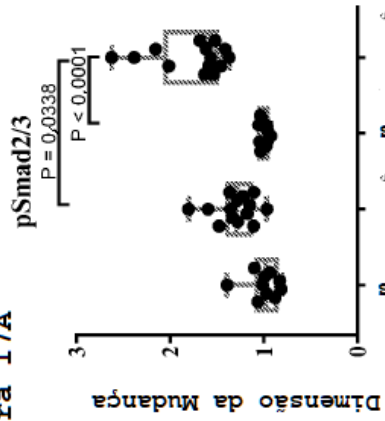


Figura 17B

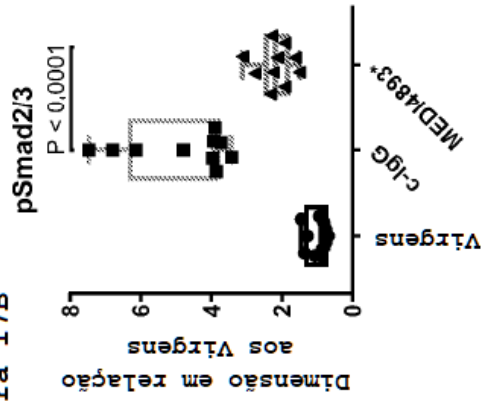
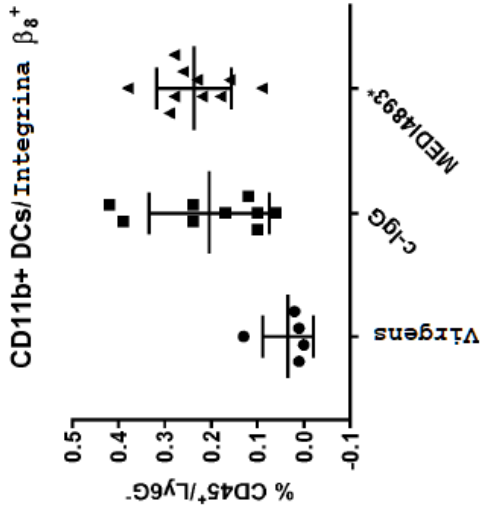
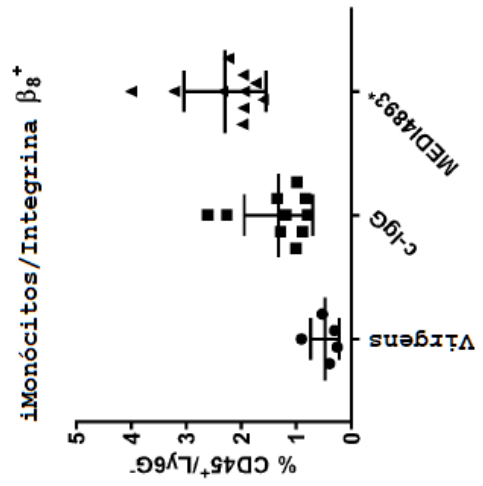


Figura 17C



RESUMO

Patente de Invenção: "**COMBINAÇÕES DE ANTICORPOS ANTI-STAPHYLOCOCCUS AUREUS**".

A presente invenção refere-se a combinações de anticorpos anti-*Staphylococcus aureus* incluindo combinações de anticorpos que se ligam à proteína da toxina alfa (AT), proteína do fator de aglutinação A (ClfA) e/ou pelo menos uma proteína da leucotoxina de *S. aureus*. Métodos de tratamento e prevenção de infecções compreendendo a administração de combinações de anticorpos são também proporcionados aqui.