

(12) PEDIDO INTERNACIONAL PUBLICADO SOB O TRATADO DE COOPERAÇÃO EM MATÉRIA DE PATENTES
(PCT)

(19) Organização Mundial da
Propriedade Intelectual
Secretaria Internacional



(43) Data de Publicação Internacional
26 de Janeiro de 2012 (26.01.2012) WIPO | PCT

(10) Número de Publicação Internacional
WO 2012/009774 A3

(51) Classificação Internacional de Patentes :

C12N 1/21 (2006.01) C07K 16/12 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01) G01N 33/535 (2006.01)
C07K 14/195 (2006.01) C12R 1/42 (2006.01)
A61K 39/02 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)

NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(21) Número do Pedido Internacional :

PCT/BR2011/000233

(22) Data do Depósito Internacional :

15 de Julho de 2011 (15.07.2011)

(25) Língua de Depósito Internacional : Português

(26) Língua de Publicação : Português

(30) Dados Relativos à Prioridade :

PI1003750-0 22 de Julho de 2010 (22.07.2010) BR

(72) Inventor; e

(71) Requerente : EBERT SEIXAS, Hanna [BR/BR]; Rua Tibiriça 1094, ap. 101, CEP: 14010-090 Ribeirão Preto, SP (BR).

(81) Estados Designados (sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção nacional existentes) :

AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,

(84) Estados Designados (sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção regional existentes) :

ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiático (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Europeu (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarações sob a Regra 4.17 :

— relativa à autoria da invenção (Regra 4.17(iv))

Publicado:

- com relatório de pesquisa internacional (Art. 21(3))
- antes da expiração do prazo para modificar as reivindicações e a republicar na eventualidade de receção de tais modificações (Regra 48.2(h))
- com listagem de seqüências, parte da descrição (Regra 5.2(a))

(88) Data de publicação do relatório de pesquisa internacional :

7 de Junho de 2012

(54) Title : RECOMBINANT MICROORGANISMS, METHODS FOR PREPARING VACCINE STRAINS, ANTIGENS, AND VECTOR VACCINE COMPOSITIONS OF SAME, USES THEREOF, AND RELATED ANTIBODIES, DIAGNOSTIC KIT, AND TREATMENT AND/OR PROPHYLACTIC METHODS

(54) Título : MICRORGANISMOS RECOMBINANTES, MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE LINHAGENS VACINAIS, ANTÍGENOS, COMPOSIÇÕES VACINAIS VETORIZADAS, SEUS USOS, ANTICORPOS, KIT DE DIAGNÓSTICO E MÉTODOS DE TRATAMENTO E/OU PROFILAXIA

(57) Abstract : The present invention relates to live recombinant microorganisms, such as prokaryotic organisms, particularly enterobacteria, preferably *Salmonella enterica*, which contain SEQ. ID. Nos. 1 and 2, are capable of expressing VapG and/or VapA/VapG lipoproteins (SEQ. ID. Nos. 3 and 4), and are optionally combined with other active principles, and the methods for preparing vaccine strains, antigens (SEQ. ID. Nos. 3 and 4) and vaccine compositions, preferably vector vaccines. Furthermore, the present patent application relates to the use of these vaccine vectors in preparing pharmaceutical compositions, particularly vaccines indicated for preventing and/or treating infections caused by *Rhodococcus equi*, antibodies and/or anti-serums of same, and diagnostic kits, and the methods for preventing and/or treating infections caused by *R. equi*.

(57) Resumo : A presente invenção provê microrganismos vivos recombinantes, tais como, organismos procariotos, em particular, enterobactérias, preferencialmente, *Salmonella entérica*, contendo as SEQ. ID. N.º. 1 e SEQ. ID. N.º. 2, capazes de expressar lipoproteínas VapG e/ou VapA/VapG (SEQ. ID. N.º. 3 e SEQ. ID. N.º. 4), opcionalmente, associadas a outros ativos, métodos de preparação de linhagens vacinais, antígenos (SEQ. ID. N.º. 3 e SEQ. ID. N.º. 4) e composições vacinais, preferencialmente, vacinas vetorizadas. Adicionalmente, o presente pedido de patente destina-se ao uso dos vetores vacinais no preparo de composições farmacêuticas, em particular, vacinas indicadas para a prevenção e/ou tratamento de infecções por *Rhodococcus equi*, seus anticorpos e/ou anti-soros, kits de diagnósticos e métodos de profilaxia e/ou tratamento de infecções de infecções por *R. equi*.



WO 2012/009774 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/BR2011/000233

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C12N1/21 (2006.01), C12N15/63 (2006.01), C07K 14/195 (2006.01), A61K39/02 (2006.01), C07K 16/12 (2006.01), G01N 33/535 (2006.01); C12R 1/42 (2006.01), A61P 31/04 (2006.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12N, A61K39 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPODOC, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS, WPI		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 5672345 (UNIV WASHINGTON) 30 September 1997 (1997-09-30) the whole document -----	1 to 19 and 24 to 36
Y	OLIVEIRA <i>et al.</i> . Oral administration of a live attenuated Salmonella vaccine strain expressing the VapA protein induces protection against infection by Rhodococcus equi. Microbes and Infection, 2007; 9: 382-390. the whole document -----	1 to 40
Y	OLIVEIRA <i>et al.</i> . Vaccination of Mice with Salmonella Expressing VapA: Mucosal and Systemic Th1 Responses Provide Protection against Rhodococcus equi Infection. PLoS ONE, January 2010; 5(1): e8644. the whole document	1 to 40
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 03/23/2012	Date of mailing of the international search report 040412	
Name and mailing address INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL Rua Mayrink Veiga nº 9, 18º andar cep: 20090-050, Centro - Rio de Janeiro/RJ	Authorized officer	
Facsimile No. +55 21 3037-3663	Telephone No.	

SUPPLEMENTARY INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/BR2011/000233

B (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	<p>-----</p> <p>CAUCHARD <i>et al.</i>. Immunogenicity of synthetic <i>Rhodococcus equi</i> virulence-associated protein peptides in neonate foals. <i>International Journal of Medical Microbiology</i>, 2006; 296: 389-396. (pages 392-394)</p> <p>-----</p>	<p>20 to 23, 37 and 38 1 to 19, 24 to 36, 39 and 40</p>
A	<p>COVONE <i>et al.</i>. Levels of Expression and Immunogenicity of Attenuated <i>Salmonella enterica</i> Serovar Typhimurium Strains Expressing <i>Escherichia coli</i> Mutant Heat-Labile Enterotoxin. <i>Infection and Immunity</i>, 1998; 66:224-231.</p> <p>-----</p>	<p>1 to 19 and 24 to 36</p>
A	<p>DAWSON <i>et al.</i>. Current understanding of the equine immune response to <i>Rhodococcus equi</i>. An immunological review of <i>R. equi</i> pneumonia. <i>Veterinary Immunology and Immunopathology</i>, May 2010; 135: 1-11.</p> <p>-----</p>	<p>1 to 40</p>
A	<p>ASCÓN <i>et al.</i>. Oral Immunization with a <i>Salmonella typhimurium</i> Vaccine Vector Expressing Recombinant Enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i> K99 Fimbriae Elicits Elevated Antibody Titers for Protective Immunity. <i>Infection and Immunity</i>, 1998; 66: 5470-5476.</p> <p>-----</p>	<p>1 to 19 and 24 to 36</p>
A	<p>JACKS <i>et al.</i>. In Vivo Expression of and Cell-Mediated Immune Responses to the Plasmid-Encoded Virulence-Associated Proteins of <i>Rhodococcus equi</i> in Foals. <i>Clinical and Vaccine Immunology</i>, 2007; 14: 369-374.</p> <p>-----</p>	<p>20 to 23 and 37 to 40</p>
A	<p>COULSON <i>et al.</i>. Characterization of the Role of the Pathogenicity Island and <i>vapG</i> in the Virulence of the Intracellular Actinomycete Pathogen <i>Rhodococcus equi</i>. <i>Infection and Immunity</i>, May 2010 (publication on line); 78: 3323-3334.</p> <p>-----</p>	<p>20 to 23 and 37 to 40</p>

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This supplementary international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) and Rule 45bis.5(c) and (d) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **41 to 44**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 41 to 44 relate to an in vivo therapeutic method, subject matter in respect of which the present Authority is not required to carry out an international search, pursuant to PCT Rule 39.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful supplementary international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).
4. Claims Nos.:
because they were not the subject of the international search (Rule 45bis.5(d)).

Box No. III Observations concerning unity of invention (Continuation of item 3 of first sheet)

1. This Authority specified for supplementary search agrees with the conclusions of the International Searching Authority regarding the issue of unity of invention (see Forms PCT/ISA/210 and 237 dated _____) and refers the applicant to these documents for further details.
2. At the request of the applicant, this supplementary international search report is limited to the invention specified by the applicant under Rule 45bis.1(d) and those parts of the international application which relate to that invention (Rule 45bis.5(b)).
3. This Authority specified for supplementary search:
 - (i) considers that there are _____ (number) inventions claimed in the international application covered by the claims indicated below/on an extra sheet:
 - (ii) therefore finds that **the international application does not comply with the requirement of unity of invention** (Rules 13.1, 13.2 and 13.3) for the reasons indicated below/on an extra sheet:
 - (iii) draws the attention of the applicant to the possibility of requesting, within **one month** from the date of mailing of this report, a review of this opinion.

Where the applicant requests the Authority to review this opinion, the applicant is hereby invited, within **one month** from the date of mailing of this report, to pay a review fee (Rule 45bis.6(c)) in the amount of _____ (currency/amount)
4. This supplementary international search report therefore covers only those parts of the international application which relate to the invention first mentioned in the claims ("main invention"). Consequently, this supplementary international search report covers only the following claims: _____
5. As all searchable claims could be searched without unreasonable additional effort, this supplementary international search report covers all claimed inventions.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/BR2011/000233

EP 5672345

--

NONE

RELATÓRIO DE PESQUISA INTERNACIONAL

Depósito internacional N°

PCT/BR2011/000233

A. CLASSIFICAÇÃO DO OBJETO

C12N1/21 (2006.01), C12N15/63 (2006.01), C07K 14/195 (2006.01), A61K39/02 (2006.01), C07K 16/12 (2006.01), G01N 33/535 (2006.01), C12R 1/42 (2006.01), A61P 31/04 (2006.01)

De acordo com a Classificação Internacional de Patentes (IPC) ou conforme a classificação nacional e IPC

B. DOMÍNIOS ABRANGIDOS PELA PESQUISA

Documentação mínima pesquisada (sistema de classificação seguido pelo símbolo da classificação)

C12N, A61K39

Documentação adicional pesquisada, além da mínima, na medida em que tais documentos estão incluídos nos domínios pesquisados

Base de dados eletrônica consultada durante a pesquisa internacional (nome da base de dados e, se necessário, termos usados na pesquisa)

EPODOC, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS, WPI

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoria*	Documentos citados, com indicação de partes relevantes, se apropriado	Relevante para as reivindicações N°
Y	EP 5672345 (UNIV WASHINGTON) 30 setembro 1997 (1997-09-30) (todo o documento)	1 a 19 e 24 a 36
Y	OLIVEIRA <i>et al.</i> . Oral administration of a live attenuated Salmonella vaccine strain expressing the VapA protein induces protection against infection by Rhodococcus equi. Microbes and Infection, 2007; 9: 382-390. (todo o documento)	1 a 40
Y	OLIVEIRA <i>et al.</i> . Vaccination of Mice with Salmonella Expressing VapA; Mucosal and Systemic Th1 Responses Provide Protection against Rhodococcus equi Infection. PLoS ONE, Janeiro de 2010; 5(1): e8644. (todo o documento)	1 a 40

Documentos adicionais estão listados na continuação do quadro C

Ver o anexo de famílias das patentes

* Categorias especiais dos documentos citados:

"A" documento que define o estado geral da técnica, mas não é considerado de particular relevância.

"E" pedido ou patente anterior, mas publicada após ou na data do depósito internacional

"L" documento que pode lançar dúvida na(s) reivindicação(ões) de prioridade ou na qual é citado para determinar a data de outra citação ou por outra razão especial.

"O" documento referente a uma divulgação oral, uso, exibição ou por outros meios.

"P" documento publicado antes do depósito internacional, porém posterior a data de prioridade reivindicada.

"T" documento publicado depois da data de depósito internacional, ou de prioridade e que não conflita como depósito, porém citado para entender o princípio ou teoria na qual se baseia a invenção.

"X" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada nova e não pode ser considerada envolver uma atividade inventiva quando o documento é considerado isoladamente.

"Y" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada envolver atividade inventiva quando o documento é combinado com outro documento ou mais de um, tal combinação sendo óbvia para um técnico no assunto.

"&" documento membro da mesma família de patentes.

Data da conclusão da pesquisa internacional
23/03/2012

Data do envio do relatório de pesquisa internacional:
040412

Nome e endereço postal da ISA/BR
INPI INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
Rua Marquês de São Carlos, 119 - Centro - Rio de Janeiro/RJ
cep: 20090-050
N° de fax: +55 21 3037-3663

Funcionário autorizado
Silvia Souza de Oliveira
N° de telefone: +55 21 3037-3493/3742

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoria*	Documentos citados, com indicação de partes relevantes, se apropriado	Relevante para as reivindicações Nº
X Y	----- CAUCHARD <i>et al.</i> . Immunogenicity of synthetic <i>Rhodococcus equi</i> virulence-associated protein peptides in neonate foals. <i>International Journal of Medical Microbiology</i> , 2006; 296: 389–396. (páginas 392-394) -----	20 a 23, 37 e 38 1 a 19, 24 a 36, 39 e 40
A	----- COVONE <i>et al.</i> . Levels of Expression and Immunogenicity of Attenuated <i>Salmonella enterica</i> Serovar Typhimurium Strains Expressing <i>Escherichia coli</i> Mutant Heat-Labile Enterotoxin. <i>Infection and Immunity</i> ; 1998; 66:224–231. -----	1 a 19 e 24 a 36
A	----- DAWSON <i>et al.</i> . Current understanding of the equine immune response to <i>Rhodococcus equi</i> . An immunological review of <i>R. equi</i> pneumonia. <i>Veterinary Immunology and Immunopathology</i> , Maio de 2010; 135: 1–11. -----	1 a 40
A	----- ASCÓN <i>et al.</i> . Oral Immunization with a <i>Salmonella typhimurium</i> Vaccine Vector Expressing Recombinant Enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i> K99 Fimbriae Elicits Elevated Antibody Titers for Protective Immunity. <i>Infection and Immunity</i> , 1998; 66: 5470–5476. -----	1 a 19 e 24 a 36
A	----- JACKS <i>et al.</i> . In Vivo Expression of and Cell-Mediated Immune Responses to the Plasmid-Encoded Virulence-Associated Proteins of <i>Rhodococcus equi</i> in Foals. <i>Clinical and Vaccine Immunology</i> , 2007; 14: 369–374. -----	20 a 23 e 37 a 40
A	----- COULSON <i>et al.</i> . Characterization of the Role of the Pathogenicity Island and <i>vapG</i> in the Virulence of the Intracellular Actinomycete Pathogen <i>Rhodococcus equi</i> . <i>Infection and Immunity</i> , Maio de 2010 (publicação <i>on line</i>); 78: 3323–3334. -----	20 a 23 e 37 a 40

Quadro II Observações quando certas reivindicações não puderam ser objeto de pesquisa (Continuação do ponto 2 da primeira página)

Este relatório de pesquisa internacional não foi formulado em relação a certas reivindicações, sob Artigo 17.2).a), pelas seguintes razões:

1. Reivindicações: **41 a 44**

porque estas se referem a matéria na qual esta Autoridade não está obrigada a realizar a pesquisa, a saber:

As reivindicações 41 a 44 consistem em método terapêutico para aplicação *in vivo*, matéria sob a qual a presente Autoridade não está obrigada a realizar pesquisa internacional, conforme disposto na Regra 39 do PCT.

2. Reivindicações:

porque estas se referem a partes do pedido internacional que não estão de acordo com os requisitos estabelecidos, de tal forma que não foi possível realizar uma pesquisa significativa, especificamente:

3: Reivindicações:

porque estas são reivindicações dependentes e não estão redigidas de acordo com os parágrafos segundo e terceiro da Regra 6.4.a).

Quadro III Observações por falta de unidade de invenção (Continuação do ponto 3 da primeira página)

Esta Autoridade de pesquisa internacional encontrou múltiplas invenções neste depósito internacional, a saber:

1. como todas as taxas requeridas para pesquisas adicionais foram pagas pelo depositante dentro do prazo, este relatório de pesquisa cobre todas as reivindicações pesquisáveis.
2. como a pesquisa em todas as reivindicações pesquisáveis pode ser feita sem esforço que justifique pagamento adicional, esta Autoridade não solicitou o pagamento de taxas adicionais.
3. como somente algumas das taxas requeridas para pesquisas adicionais foram pagas pelo depositante dentro do prazo, este relatório de pesquisa internacional cobre somente aquelas reivindicações cujas taxas foram pagas, especificamente as reivindicações:
4. as taxas de pesquisas adicionais requeridas não foram pagas dentro do prazo pelo depositante. Consequentemente, este relatório de pesquisa internacional se limita à invenção mencionada primeiramente nas reivindicações, na qual é coberta pelas reivindicações:

Observações da reclamação

- as taxas adicionais para pesquisas foram acompanhadas pela reclamação do depositante e, se for o caso, pelo pagamento da taxa de reclamação.
- as taxas adicionais para pesquisa foram acompanhadas pela reclamação do depositante mas a taxa de reclamação não foi paga dentro do prazo especificado pela solicitação.
- o pagamento de pesquisas adicionais não acompanha nenhuma reclamação.

RELATÓRIO DE PESQUISA INTERNACIONAL
Informação relativa a membros da família de patentes

Deposito internacional Nº
PCT/BR2011/000233

Documentos de patente citados no relatório de pesquisa	Data de publicação	Membro(s) da família de patentes	Data de publicação
EP 5672345 -----	-- -----	Nenhum -----	-----