



SPF Economie, PME, Classes
Moyennes & Energie
Office de la Propriété intellectuelle

1022355 B1

Date de délivrance : 24/03/2016

BREVET D'INVENTION

Date de priorité : 02/04/2014

Classification internationale : A61K 39/002, A61K 39/015, A61K 39/29, A61K 39/39

Numéro de dépôt : BE2015/5209

Date de dépôt : 02/04/2015

Titulaire :

GlaxoSmithKline Biologicals S.A.
1330, Rixensart
Belgique

Inventeur :

BALLOU JR, William Ripley
1330 RIXENSART
Belgique

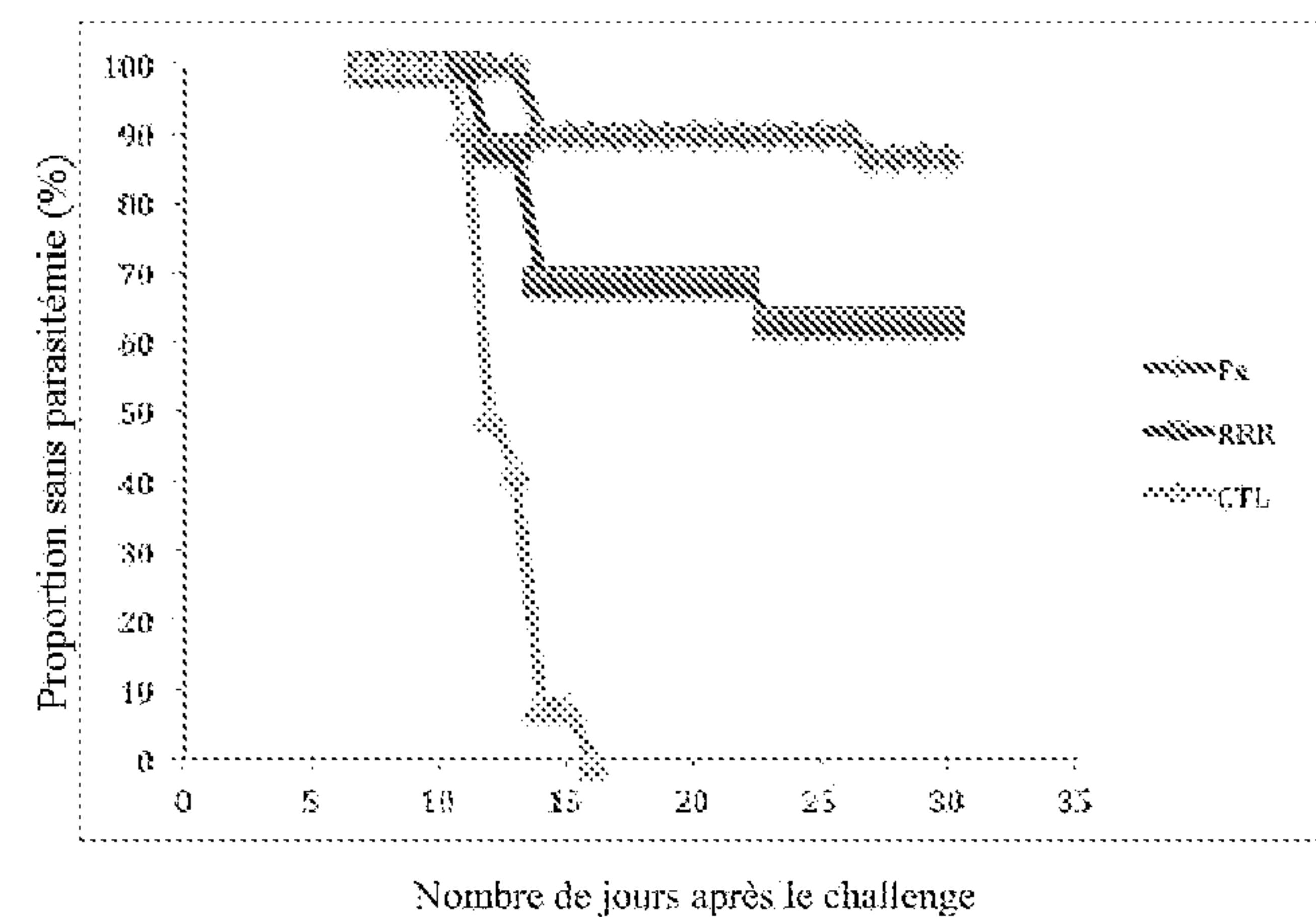
DIDIERLAURENT Arnaud Michel
1330 RIXENSART
Belgique

VAN DER MOST Robbert Gerrit
1330 RIXENSART
Belgique

NOUVELLES MÉTHODES D'INDUCTION D'UNE RÉPONSE IMMUNITAIRE

Des méthodes et des utilisations permettant d'induire une réponse immunitaire consistant à réaliser au moins deux administrations d'une composition immunogène, la seconde administration étant donnée avec une dose plus faible que celle de la première administration, et la seconde administration pouvant ne pas comprendre d'adjuvant.

Figure 1



NOUVELLES MÉTHODES D' INDUCTION D'UNE RÉPONSE IMMUNITAIRE

Domaine technique

La présente invention concerne des méthodes permettant
5 d'induire une réponse immunitaire, en particulier des méthodes d'immunisation consistant à administrer au moins deux fois une composition immunogène contenant des adjuvants, la dose administrée la deuxième fois étant plus faible que la première.

10

Contexte de l'invention

La vaccination est l'une des méthodes les plus efficaces pour prévenir les maladies infectieuses. Cependant, l'administration unique d'un antigène est souvent insuffisante
15 pour conférer une immunité complète et/ou induire une réponse durable. Certaines approches consistent à ajouter des adjuvants au vaccin et/ou à administrer des doses de rappel (en d'autres termes, il s'agit de restimuler la réponse immunitaire en administrant une ou plusieurs autres doses de
20 l'antigène) pour instaurer une immunité forte et durable vis-à-vis du pathogène spécifique. Le vaccin administré en rappel et le vaccin administré en primovaccination peuvent être les mêmes (rappel homologue) ou être différents (rappel hétérologue). L'approche la plus fréquente pour le rappel
25 homologue consiste non seulement à administrer le même vaccin, mais également à l'administrer à la même dose à chaque fois.

Le paludisme est l'une des maladies pour lesquelles la vaccination nécessite plusieurs injections. Le paludisme est l'un des problèmes de santé majeurs à l'échelle planétaire. En
30 2010, l'Organisation mondiale de la santé a estimé à 219 millions le nombre de cas de paludisme dans le monde. Le paludisme est provoqué par le parasite protozoaire du genre *Plasmodium*.

Le cycle de vie du parasite est complexe et nécessite
35 deux hôtes, l'homme et le moustique, pour pouvoir être complet. L'infection de l'homme résulte de l'inoculation de sporozoïtes par l'intermédiaire de la salive du moustique

infecté. Le stade du sporozoïte a été identifié comme une cible potentielle pour un vaccin antipaludique. La principale protéine de surface du sporozoïte est connue sous le nom de protéine circumsporozoïte (protéine CS). Le RTS,S, antigène basé sur la protéine CS de *Plasmodium* est à l'étude depuis plus de 25 ans et constitue actuellement le candidat le plus évolué pour un vaccin antipaludique.

Au tout début du projet, le RTS,S a été étudié dans un essai clinique de taille modeste, en association avec un adjuvant composé de la QS21 et du 3D-MPL associés à une émulsion huile dans l'eau (Stoute et al. 1997 *NEJM* 336:86). Cette étude prévoyait un calendrier d'administration de trois doses complètes, mais à cause d'une réactogénicité excessive, la troisième injection a été réduite à 1/5^e de la dose complète et a été administrée plus tard que la date initialement prévue. Au final, cette étude a permis de protéger six des sept sujets participants. Dans les travaux qui ont suivi, un calendrier d'immunisation de trois doses complètes a été utilisé et, dans des études plus récentes, employant aussi ce même calendrier, le RTS,S a été complété d'une préparation liposomale comprenant la QS21 et le 3D-MPL. Cet adjuvant est désigné sous le nom de AS01 et est décrit, notamment, dans les documents WO 96/33739 et WO2007/068907). Les données récentes provenant d'un essai clinique de Phase III de grande envergure, où le vaccin RTS,S/AS01 a été administré en trois doses identiques à 1 mois d'intervalle ont montré que sur 18 mois de suivi, le vaccin RTS,S/AS01 réduisait presque de moitié le nombre de cas de paludisme chez les jeunes enfants (5 à 17 mois au moment de la première vaccination) et réduisait de près d'un quart le nombre de cas de paludisme chez les nourrissons (6 à 12 semaines au moment de la première vaccination) sur une période de suivi de 18 mois.

Si des progrès significatifs ont été faits dans le domaine de la recherche et de la mise au point des vaccins, il n'en demeure pas moins que les efforts doivent être poursuivis pour développer de nouvelles compositions immunogènes et de

nouvelles méthodes d'immunisation contre certaines maladies, notamment le paludisme, qui soient extrêmement efficaces, sans danger, rentables, durables et qui induisent un large spectre de réponses immunitaires à réactivité croisée.

5

Résumé de l'invention

Il a été trouvé de manière surprenante, qu'avec une méthode d'immunisation à plusieurs doses utilisant un vaccin antipaludique à adjuvant, l'immunisation est plus efficace quand la dose de rappel est moins forte que la dose de primovaccination (dose d'amorce) que lorsque les doses sont les mêmes. L'adjuvant utilisé comprend un agoniste de TLR4, le 3D-MPL et la QS21, une fraction de saponine immunologiquement active.

15

Dans un premier aspect, l'invention concerne donc une méthode permettant d'induire une réponse immunitaire chez l'homme et consistant à administrer au sujet une première composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et

20

un premier adjuvant, puis une seconde composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un second adjuvant, la première et la seconde composition ayant au moins un antigène en commun, le premier et le second adjuvant comprenant un agoniste de TLR et/ou une saponine immunologiquement active et

25

ayant au moins l'un de ces deux composants en commun et

- le second adjuvant contenant une quantité du composant en commun plus faible que le premier adjuvant, et/ou
- l'antigène en commun étant le RTS,S et la seconde composition contenant une quantité de RTS,S plus faible que la première composition,

30

à condition que la première et la seconde composition ne comprennent pas toutes les deux le RTS,S et la QS21 et le 3D-MPL associés à une émulsion huile dans l'eau.

35

Dans un autre aspect, l'invention concerne une méthode permettant d'induire une réponse immunitaire chez l'homme et consistant à administrer au sujet une première composition

immunogène comprenant le RTS,S et un adjuvant, puis une seconde composition immunogène comprenant le RTS,S, l'adjuvant comportant un agoniste de TLR et/ou une saponine immunologiquement active, et la seconde composition immunogène 5 ne contenant pas d'adjuvant.

Brève description des figures

Figure 1 : Pourcentage des sujets vaccinés qui n'ont pas développé de parasitémie après le « challenge » sur une 10 période de suivi de 28 jours. Fx désigne le groupe « Fraction de dose administrée ultérieurement », RRR le groupe « 0, 1, 2 mois », et CTL le groupe témoin

Figure 2 : Séquence de RTS

Figure 3 : Séquence de l'antigène de VZV

15

Description détaillée

Comme décrit précédemment, l'invention concerne, dans un premier aspect, une méthode permettant d'induire une réponse immunitaire chez l'homme et consistant à administrer au sujet 20 une première composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un premier adjuvant, puis une seconde composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un second adjuvant, la première et la seconde composition ayant au moins un antigène en commun, le premier et le second adjuvant 25 comprenant un agoniste de TLR et/ou une saponine immunologiquement active et ayant au moins l'un de ces deux composants en commun,

- le second adjuvant contenant une quantité du composant en commun plus faible que le premier adjuvant, et/ou
- l'antigène en commun étant le RTS,S et la seconde composition contenant une quantité de RTS,S plus faible que la première composition,
à condition que la première et la seconde composition ne comprennent pas toutes les deux le RTS,S et la QS21 et le 3D-35 MPL associés à une émulsion huile dans l'eau.

L'invention concerne également une première composition immunogène utilisée dans une méthode permettant d'induire une réponse immunitaire chez l'homme et consistant à administrer au sujet une première composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un premier adjuvant, puis une seconde composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un second adjuvant, la première et la seconde composition ayant au moins un antigène en commun, le premier et le second adjuvant comprenant un agoniste de TLR et/ou une saponine immunologiquement active et ayant au moins l'un de ces deux composants en commun,

- le second adjuvant contenant une quantité du composant en commun plus faible que le premier adjuvant, et/ou
 - l'antigène en commun étant le RTS,S et la seconde composition contenant une quantité de RTS,S plus faible que la première composition,
- à condition que la première et la seconde composition ne comprennent pas toutes les deux le RTS,S et la QS21 et le 3D-MPL associés à une émulsion huile dans l'eau.

20

L'invention concerne également une seconde composition immunogène utilisée dans une méthode permettant d'induire une réponse immunitaire chez l'homme et consistant à administrer au sujet une première composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un premier adjuvant, puis une seconde composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un second adjuvant, la première et la seconde composition ayant au moins un antigène en commun, le premier et le second adjuvant comprenant un agoniste de TLR et/ou une saponine immunologiquement active et ayant au moins l'un de ces deux composants en commun,

- le second adjuvant contenant une quantité du composant en commun plus faible que le premier adjuvant, et/ou
- l'antigène en commun étant le RTS,S et la seconde composition contenant une quantité de RTS,S plus faible que la première composition,

à condition que la première et la seconde composition ne comprennent pas toutes les deux le RTS,S et la QS21 et le 3D-MPL associés à une émulsion huile dans l'eau.

5 L'invention concerne, dans un autre aspect, l'utilisation d'une seconde composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un second adjuvant dans la fabrication d'un médicament permettant d'induire une réponse immunitaire chez l'homme, ledit sujet ayant déjà reçu une première
10 composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un premier adjuvant, la première et la seconde composition ayant au moins un antigène en commun, le premier et le second adjuvant comprenant un agoniste de TLR et/ou une saponine immunologiquement active et ayant au moins l'un de ces deux
15 composants en commun,

- le second adjuvant contenant une quantité du composant en commun plus faible que le premier adjuvant, et/ou
- l'antigène en commun étant le RTS,S et la seconde composition contenant une quantité de RTS,S plus faible que
20 la première composition,

à condition que la première et la seconde composition ne comprennent pas toutes les deux le RTS,S et la QS21 et le 3D-MPL associés à une émulsion huile dans l'eau.

25 L'invention concerne, dans un autre aspect, une méthode permettant d'induire une réponse immunitaire chez l'homme et consistant à administrer au sujet une première composition immunogène comprenant le RTS,S et un adjuvant, puis une seconde composition immunogène comprenant le RTS,S, l'adjuvant
30 comportant un agoniste de TLR et/ou une saponine immunologiquement active, et la seconde composition immunogène ne contenant pas d'adjuvant. Dans un mode de réalisation de cette méthode, la première et la seconde composition comprennent toutes les deux 25 microgrammes de RTS,S ou
35 50 microgrammes de RTS,S.

D'une manière générale, la méthode de l'invention cherche à induire une réponse immunitaire protectrice, autrement dit à immuniser ou à vacciner le sujet contre le pathogène dont provient l'antigène. Dans un mode de réalisation, l'efficacité 5 vaccinale de la méthode de l'invention est améliorée par rapport à un schéma thérapeutique dans lequel la première composition et la seconde composition sont identiques. Par exemple, l'efficacité vaccinale, d'après l'exemple inclus ici, peut être améliorée d'au moins 10 %, par exemple de 25 %. Dans 10 un mode de réalisation, l'efficacité vaccinale obtenue est supérieure à 80 %, par exemple supérieure à 90 %, d'après l'exemple inclus ici. La méthode peut donc être utilisée pour prévenir les maladies infectieuses (autrement dit en prophylaxie). La méthode peut par ailleurs être utilisée en 15 immunothérapie, autrement dit pour traiter une maladie, par exemple le cancer, en induisant ou en stimulant une réponse immunitaire.

Adjuvants utilisés dans la méthode de l'invention

20 Comme décrit précédemment, le premier adjuvant et le second adjuvant comprennent un agoniste de TLR et/ou une saponine immunologiquement active et ont au moins l'un de ces deux composants en commun.

Dans un mode de réalisation, le premier adjuvant et le 25 second adjuvant comprennent donc tous les deux un agoniste de TLR. Dans un autre mode de réalisation, le premier adjuvant et le second adjuvant comprennent tous les deux une saponine immunologiquement active. Dans un autre mode de réalisation encore, le premier adjuvant et le second adjuvant comprennent 30 tous les deux un agoniste de TLR et une saponine immunologiquement active.

Dans un mode de réalisation, le premier adjuvant et le second adjuvant sont constitués des mêmes composants. Dans ce mode de réalisation, les composants des deux adjuvants sont 35 donc les mêmes, mais ne sont pas nécessairement présents dans les mêmes proportions relatives. Par exemple, le premier adjuvant et le second adjuvant peuvent tous les deux être

constitués d'un agoniste de TLR et d'une saponine dans une préparation liposomale, mais le rapport agoniste de TLR sur saponine peut être de 5:1 dans le premier adjuvant et de 1:1 dans le second adjuvant.

5 Dans un autre mode de réalisation, le premier adjuvant et le second adjuvant sont constitués des même composants et les proportions relatives sont les mêmes. Mais dans ce mode de réalisation-là, si les proportions relatives des composants de l'adjuvant sont les mêmes, leurs quantités absolues peuvent 10 être différentes. Par exemple les quantités absolues de tous les composants présents dans le second adjuvant peuvent, par exemple, valoir un cinquième des quantités absolues de tous les composants présents dans le premier adjuvant.

Comme décrit précédemment, dans un mode de réalisation, 15 le second adjuvant contient une quantité du composant en commun plus faible (c'est-à-dire une quantité de l'agoniste de TLR plus faible ou une quantité de la saponine plus faible ou une quantité plus faible des deux) que le premier adjuvant.

Dans un mode de réalisation, la quantité dans le second 20 adjuvant est au moins 10 % plus faible, par exemple au moins 25 % plus faible, par exemple au moins deux fois plus faible, par exemple au moins trois fois plus faible, par exemple au moins quatre fois plus faible, par exemple au moins cinq fois plus faible, par exemple au moins six fois plus faible, par 25 exemple au moins sept fois plus faible, par exemple au moins huit fois plus faible, par exemple au moins neuf fois plus faible, par exemple au moins dix fois plus faible, par exemple au moins 15 fois plus faible, par exemple au moins 20 fois plus faible que dans le premier adjuvant.

30 Dans un autre mode de réalisation, la quantité dans le second adjuvant est entre 2 et 50 fois plus faible, par exemple entre 2 et 20 fois plus faible, par exemple entre 2 et 15 fois plus faible, par exemple entre 2 et 10 fois plus faible, par exemple entre 3 et 7 fois plus faible, par exemple entre 4 et 6 fois plus faible que dans le premier adjuvant.

Comme décrit précédemment, dans un mode de réalisation, le premier adjuvant et le second adjuvant comprennent un

agoniste de TLR (Toll-like receptor, récepteur de type Toll). L'utilisation d'agonistes des TLR dans les adjuvants est bien connue de l'Etat de l'art et a été revue par exemple par Lahiri et al. (2008), *Vaccine* 26:6777. Parmi les TLR qui peuvent être stimulés pour obtenir un effet adjuvant figurent TLR2, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8 et TLR9. Les agonistes de TLR2, TLR4, TLR7 et TLR8, et en particulier les agonistes de TLR4, sont préférés.

Parmi les agonistes de TLR4 appropriés figurent les lipopolysaccharides, par exemple le lipide monophosphorique A (MPL) et lipide monophosphorique A 3-O-désacylé (3D-MPL). Le brevet US 4 436 727 décrit le MPL et sa fabrication. Le brevet US 4 912 094 et le certificat de réexamen B1 4 912 094 décrivent le 3D-MPL et une méthode permettant de le fabriquer. L'adjuvant lipidique à base de glucopyranosyle (GLA, glucopyranosyl lipide adjuvant) est un autre agoniste de TLR4 ; il s'agit d'une molécule synthétique semblable au lipide A (voir, par exemple, Fox et al. (2012) *Clin. Vaccine Immunol* 19:1633). Dans un autre mode de réalisation encore, l'agoniste de TLR4 peut être un agoniste de TLR4 synthétique, par exemple une molécule de disaccharide synthétique, de structure similaire à MPL et à 3D-MPL, ou il peut s'agir de molécules de monosaccharides synthétiques, par exemple les composés aminoalkyle glucosaminide phosphate (AGP) décrits, par exemple, dans les documents WO9850399, WO0134617, WO0212258, WO3065806, WO04062599, WO06016997, WO0612425, WO03066065 et WO0190129. Ces molécules ont également été décrites dans la littérature scientifique et celle des brevets sous forme de « lipide A mimétiques ». Les « lipide A mimétiques » partagent de manière appropriée une partie de l'activité fonctionnelle et/ou structurelle avec le lipide A, et dans un aspect ils sont reconnus par les récepteurs TLR4. Les AGP tels qu'ils sont décrits ici sont parfois désignés « lipide A mimétiques » dans l'Etat de l'art. Dans un mode de réalisation préféré, l'agoniste de TLR4 est le 3D-MPL. Les agonistes de TLR4, par exemple le lipide monophosphorique A 3-O-désacylé (3D-MPL), et

leur utilisation comme adjuvants dans les vaccins ont, par exemple, été décrits dans les documents WO 96/33739 et WO2007/068907 et ont été revus par Alving et al. (2012) *Curr Opin in Immunol* 24:310.

5 Dans un autre mode de réalisation de la méthode de l'invention, le premier adjuvant et le second adjuvant comprennent une saponine immunologiquement active, par exemple une fraction de saponine immunologiquement active, par exemple la QS21.

10 Les adjuvants comprenant des saponines ont été décrits dans l'Etat de l'art. Les saponines sont décrites par Lacaille-Dubois et Wagner (1996) *A review of the biological et pharmacological activities of saponines. Phytomedicine* vol 2:363. Les saponines sont connues pour être utilisées comme 15 adjuvants dans les vaccins. Par exemple, la saponine Quil-A® (dérivée de l'écorce de *Quillaja saponaria* Molina, arbre originaire d'Amérique du Sud), a été décrite par Dalsgaard et al. en 1974 ("Saponin adjuvants", *Archiv. fur die gesamte Virusforschung*, Vol. 44, Springer Verlag, Berlin, 243) pour 20 avoir une activité adjuvante. Des fractions purifiées de Quil-A® ont été isolées par HPLC qui conservent l'activité adjuvante de Quil-A® sans la toxicité associée (Kensil et al. (1991) *J. Immunol.* 146: 431. Des fractions de Quil-A® aussi décrites dans le brevet US 5 057 540 et l'article "Saponines 25 as vaccine adjuvants", Kensil, C. R. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 1996, 12 (1-2):1-55.

Les deux fractions QS7 et QS21 (également connues sous le nom de QA-7 et QA-21), sont les deux fractions appropriées pour être utilisées dans la présente invention, la QS21 étant 30 une fraction de saponine immunologiquement active préférée. La QS21 a été revue par Kensil (2000) dans O'Hagan, *Vaccine Adjuvants: preparation methods and research protocols*. Homana Press, Totowa, New Jersey, chapitre 15. Des systèmes d'adjuvant sous forme de particules comprenant des fractions 35 de Quil-A®, par exemple QS21 et QS7, sont notamment décrits dans les documents WO 96/33739, WO 96/11711 et WO2007/068907.

Outre d'autres composants, l'adjuvant comprend de préférence un stérol. La présence d'un stérol peut par ailleurs réduire la réactogénicité des compositions comprenant des saponines, voir par exemple le document EP0822831. Le bêta-sitostérol, le stigmastérol, l'ergostérol, l'ergocalciférol et le cholestérol figurent parmi les stérols appropriés. Le cholestérol est particulièrement approprié. De manière appropriée, la fraction de saponine immunologiquement active est la QS21 et le rapport QS21:stérol va de 1:100 à 1:1 p/p, par exemple de 1:10 à 1:1 p/p, par exemple de 1:5 à 1:1 p/p.

Dans un mode de réalisation préféré de la méthode de l'invention, l'agoniste de TLR4 est le 3D-MPL et la saponine immunologiquement active est la QS21.

Dans certains modes de réalisation, l'adjuvant se présente sous la forme d'une émulsion huile dans l'eau, comprenant par exemple du squalène, l'alpha-tocophérol et un tensioactif (voir par exemple le document W095/17210) ou sous la forme d'un liposome, la présentation liposomale étant la forme préférée.

Le terme « liposome » utilisé ici fait référence à des structures lipidiques uni- ou multilamellaires (en particulier 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 lamelles selon le nombre de membranes lipidiques formées) entourant un milieu aqueux. Les liposomes et les préparations de liposomes sont bien connus de l'Etat de l'art. Les présentations liposomales sont décrites, par exemple, dans les documents WO 96/33739 et WO2007/068907. Les lipides qui sont capables de former des liposomes incluent toutes les substances ayant des propriétés lipidiques ou de type lipidique. Les lipides pouvant constituer les lipides des liposomes peuvent être sélectionnés dans le groupe comprenant les glycérides, les glycérophospholipides, les glycérophosphinolipides, les glycérophosphonolipides, les sulfolipides, les sphingolipides, les phospholipides, les isoprénolides, les stéroïdes, les stéarines, les stérols, les archéolipides, les lipides cationiques synthétiques et les hydrates de carbone contenant des lipides. Dans un mode de

réalisation particulier de l'invention, les liposomes comprennent un phospholipide. Parmi les phospholipides appropriés figurent (sans s'y limiter) : la phosphocholine (PC) qui est un intermédiaire dans la synthèse 5 de la phosphatidylcholine ; les dérivés naturels de phospholipides : la phosphocholine d'œuf, la phosphocholine de soja, la phosphocholine de soja hydrogénée, la sphingomyéline comme phospholipides naturels ; et les dérivés synthétiques de phospholipides : la phosphocholine (didécanoïl-L-a-10 phosphatidylcholine [DDPC], la dilauroylphosphatidylcholine [DLPC], la dimyristoylphosphatidylcholine [DMPC], la dipalmitoyl phosphatidylcholine [DPPC], la distéaroyl phosphatidylcholine [DSPC], la dioléoyl phosphatidylcholine [DOPC], la 1-palmitoyl, la 2-15 oléoylphosphatidylcholine [POPC], la diéaidoyl phosphatidylcholine [DEPC]), le phosphoglycérol (1,2-dimyristoyl-sn-glycéro-3-phosphoglycérol [DMPG], le 1,2-dipalmitoyl-sn-glycéro-3-phosphoglycérol [DPPG], le 1,2-20 distéaroyl-sn-glycéro-3-phosphoglycérol [DSPG], le 1-palmitoyl-2-oléoyl-sn-glycéro-3-phosphoglycérol [POPG]), l'acide phosphatidique (acide 1,2-dimyristoyl-sn-glycéro-3-phosphatidique [DMPA], l'acide 1,2-dipalmitoyl phosphatidique [DPPA], l'acide 1,2-distéaroyl-25 phosphatidique [DSPA]), la phosphoéthanolamine (1,2-dimyristoyl-sn-glycéro-3-phosphoéthanolamine [DMPE], la 1,2-dipalmitoyl-sn-glycéro-3-phosphoéthanolamine [DPPE], la 1,2-distéaroyl-sn-glycéro-3-phosphoéthanolamine [DSPE], la 1,2-dioléoyl-sn-glycéro-3-phosphoéthanolamine [DOPE]), la 30 phosphosérine, le polyéthylène glycol [PEG] phospholipide.

La taille des liposomes peut varier de 30 nm à plusieurs µm selon la composition des phospholipides et la méthode utilisée pour les préparer. Dans des modes de réalisation particuliers de l'invention, la taille des liposomes se situe 35 dans la gamme de 50 nm à 500 nm, et dans d'autres modes de réalisation de 50 nm à 200 nm. La diffusion de la lumière

laser dynamique est une méthode utilisée pour mesurer la taille des liposomes et bien connue de l'homme du métier.

Dans un mode de réalisation particulièrement approprié, les liposomes utilisés dans l'invention comprennent la DOPC et 5 un stérol, en particulier le cholestérol. Dans un mode de réalisation particulier, les compositions de l'invention comprennent donc la QS21 dans une quantité quelconque décrite ici sous la forme d'un liposome, ledit liposome comprenant la DOPC et un stérol, en particulier le cholestérol.

10 De préférence, le premier adjuvant et le second adjuvant comprennent le 3D-MPL et la QS21 dans une préparation liposomale.

Dans un mode de réalisation, le premier adjuvant comprend entre 25 et 75, par exemple 50 microgrammes, de 3D-MPL et 15 entre 25 et 75, par exemple 50 microgrammes de QS21 dans une préparation liposomale et le second adjuvant comprend entre 5 et 15, par exemple 10 microgrammes de 3D-MPL et entre 5 et 15, par exemple 10 microgrammes de QS21 dans une préparation liposomale.

20 Dans un autre mode de réalisation, le premier adjuvant comprend entre 12,5 et 37,5, par exemple 25 microgrammes, de 3D-MPL et entre 12,5 et 37,5, par exemple 25 microgrammes de QS21 dans une préparation liposomale et le second adjuvant comprend entre 2,5 et 7,5, par exemple 5 microgrammes de 3D- 25 MPL et entre 2,5 et 7,5, par exemple 5 microgrammes de QS21 dans une préparation liposomale.

Il est bien connu que pour l'administration parentérale, les solutions doivent être physiologiquement isotoniques (c'est-à-dire avoir une osmolalité pharmaceutiquement acceptable) pour éviter la déformation ou la lyse des cellules. Un « agent d'isotonicité » est un composé qui est physiologiquement toléré et qui confère une tonicité appropriée à une préparation (par exemple les compositions immunogènes de l'invention) pour éviter le flux net de l'eau à 30 travers les membranes des cellules en contact avec la préparation. Des compositions adjuvantes aqueuses qui contiennent 100 mM de chlorure de sodium ou plus, par exemple 35

le système adjuvant A (ASA) figurant dans les documents WO 2005/112991 et WO2008/142133, ou les adjuvants liposomaux décrits dans le document WO2007/068907, sont connues.

Dans certains modes de réalisation, l'agent d'isotonicité 5 utilisé pour la composition est un sel. Dans d'autres modes de réalisation, cependant, la composition comprend un agent d'isotonicité non ionique et la concentration du chlorure de sodium ou la force ionique de la composition est inférieure à 100 mM, par exemple inférieure à 80 mM, par exemple inférieure 10 à 30 mM, par exemple inférieure à 10 mM ou inférieure à 5 mM. Dans un mode de réalisation préféré, l'agent d'isotonicité non ionique est un polyol, par exemple le sorbitol. La concentration du sorbitol peut, par exemple, être comprise entre environ 3 % et environ 15 % (p/v), par exemple entre 15 environ 4 % et environ 10 % (p/v). Des adjuvants comprenant une fraction de saponine immunologiquement active et un agoniste de TLR4 où l'agent d'isotonicité est un sel ou un polyol ont été décrits dans le document WO2010142685, notamment dans les Exemples 1 et 2 du document WO2010142685.

20 Dans un autre mode de réalisation, le premier adjuvant et/ou le second adjuvant ne comprennent pas d'aluminium.

Antigènes utilisés dans la méthode de l'invention.

Dans un mode de réalisation de la méthode de l'invention, la 25 seconde composition contient une quantité de l'antigène en commun plus faible que dans la première composition.

Dans un mode de réalisation, la quantité de l'antigène en commun dans la seconde composition est au moins 10 % plus faible, par exemple au moins 25 % plus faible, par exemple au 30 moins deux fois plus faible, par exemple au moins trois fois plus faible, par exemple au moins quatre fois plus faible, par exemple au moins cinq fois plus faible, par exemple au moins six fois plus faible, par exemple au moins sept fois plus faible, par exemple au moins huit fois plus faible, par exemple au moins 35 neuf fois plus faible, par exemple au moins dix fois plus faible, par exemple au moins 15 fois plus

faible, par exemple au moins 20 fois plus faible que dans la première composition.

Dans un autre mode de réalisation, la quantité de l'antigène en commun dans la seconde composition est entre 2 et 50 fois plus faible, par exemple entre 2 et 20 fois plus faible, par exemple entre 2 et 15 fois plus faible, par exemple entre 2 et 10 fois plus faible, par exemple entre 3 et 7 fois plus faible, par exemple entre 4 et 6 fois plus faible que dans la première composition.

10 Comme décrit précédemment, la première composition immunogène et la seconde composition immunogène possèdent au moins un antigène en commun. Dans certains modes de réalisation, les antigènes présents dans la première et la seconde composition sont tous les mêmes.

15 Dans un mode de réalisation, l'antigène en commun est un antigène de *Plasmodium*, par exemple un antigène de *P. falciparum* ou de *P. vivax*. Dans un mode de réalisation, l'antigène en commun est la protéine circumsporozoïte (CP) ou un fragment immunogène ou un variant de celle-ci, par exemple 20 la protéine CS de *P. falciparum* ou un fragment immunogène ou un variant de celle-ci ou la protéine CS de *P. vivax* ou un fragment immunogène ou un variant de celle-ci.

Dans un autre mode de réalisation, l'antigène en commun est CelTOS (numéro d'accession Q8I5P1 : *P. falciparum* 3D7 25 CelTOS ; GenBank : AAN36249.), TRAP (numéro d'accession : CAD52497.1 GI:23615505) ou Pfs25 (numéro d'accession : AAN35500.1 GI:23495169) ou un fragment immunogène ou un variant de CelTOS, TRAP, et/ou Pfs25.

Dans un autre mode de réalisation, l'antigène en commun 30 est une protéine immunogène constituée de l'antigène de surface S du virus de l'hépatite B (HBsAg) ou un fragment immunogène de celle-ci, ou une protéine immunogène comprenant HBsAg ou un fragment immunogène de celle-ci, par exemple une protéine de fusion de HBsAg avec un antigène différent.

35 Dans un autre mode de réalisation, l'antigène en commun est un antigène de VZV, par exemple la glycoprotéine gE (ou gp1) de VZV ou un dérivé immunogène de celle-ci. La

protéine gE de type sauvage ou pleine longueur est constituée de 623 acides aminés comprenant un peptide signal, la majeure partie de la protéine, une région d'ancrage hydrophobe (résidus 546-558) et une queue C-terminale. Dans un aspect, une extrémité C tronquée de gE (également désignée gE tronquée) est utilisée, la troncature éliminant 4 à 20 pour cent du nombre total des résidus d'acides aminés de l'extrémité carboxy-terminale. Dans un autre aspect, la gE tronquée est dépourvue de la région d'ancrage de l'extrémité carboxylique (de manière appropriée, à peu près les acides aminés 547-623 de la séquence de type sauvage). Dans un autre aspect, la gE est une gE tronquée de séquence SEQ ID NO. 2.

L'antigène gE, ses dérivés sans ancrage (qui sont aussi des dérivés immunogènes) et leur production sont décrits dans le document EP0405867 et les références de la présente description (voir aussi Vafai (1994) Vaccine 12:1265). Le document EP192902 décrit aussi la gE et sa production. La gE tronquée dont la séquence est illustrée en figure 3, est aussi décrite par Haumont et al. Virus Research (1996) 40:199, et est intégrée ici entièrement par référence.

Dans un autre mode de réalisation, l'antigène en commun est un antigène de CMV, par exemple la gB ou un fragment immunogène de celle-ci ou un variant de celle-ci. Les antigènes dérivés de la gB appropriés ont été décrits dans le document WO 2012/049317, publié aux États-Unis sous la référence US2013216613 et qui est intégré par référence en vue de décrire les protéines appropriées à utiliser dans la présente invention.

Dans un autre mode de réalisation, l'antigène en commun est un antigène de RSV, par exemple la protéine F de RSV ou un fragment immunogène de celle-ci ou un variant de celle-ci. Les antigènes dérivés de la protéine F appropriés ont été décrits dans le document WO2010149745, par exemple les variants de la protéine F illustrés dans les séquences SEQ ID NO : 18, SEQ ID NO : 20 et SEQ ID NO : 22 du document WO2010149745. D'autres antigènes du RSV appropriés ont été décrits dans les documents WO2011008974 et WO2012158613.

Dans un autre mode de réalisation, l'antigène en commun est un antigène du virus de la dengue, par exemple un virus de la dengue entier inactivé ou vivant atténué. La composition peut être multivalente et contenir par exemple quatre souches 5 du virus de la dengue ou plus.

Dans un autre mode de réalisation, l'antigène en commun est un antigène du virus *Haemophilus influenzae*, par exemple la protéine E et/ou la piline A ou des fragments immunogènes de celles-ci ou des variants de celles-ci, par exemple ceux 10 décrits dans le document WO2012139225.

Dans un autre mode de réalisation, l'antigène en commun est un antigène de *M. tuberculosis*, par exemple l'antigène M72, par exemple l'antigène décrit dans le document WO2006/117240, ou le brevet américain US No. 8 470 338 et qui 15 est intégré par référence en vue de décrire les protéines appropriées à utiliser dans la présente invention.

Un fragment immunogène peut avoir une longueur quelconque pourvu qu'il conserve ses propriétés immunogènes. Le fragment peut, par exemple, comprendre 5 acides aminés consécutifs ou 20 plus, par exemple 10 acides aminés consécutifs ou plus, par exemple 20 acides aminés consécutifs ou plus, par exemple 50 acides aminés consécutifs ou plus, par exemple 100 acides aminés consécutifs ou plus de la protéine CS.

Dans un autre mode de réalisation, l'antigène en commun 25 comprend ou est constitué d'un variant de la protéine CS.

Un variant polypeptidique peut contenir un certain nombre de substitutions, de préférence de substitutions conservatrices (la modification peut concerner par exemple, 1 à 50, par exemple 1 à 25, en particulier 1 à 10, et tout 30 particulièrement 1 résidu(s) d'acide(s) aminé(s) par rapport à la séquence de référence). De manière appropriée, ces substitutions ne se produisent pas dans la région d'un épitope et n'ont donc pas d'incidence significative sur les propriétés immunogènes de l'antigène.

Les variants des protéines peuvent aussi être des variants contenant des acides aminés supplémentaires par rapport à la séquence de référence ; ces insertions peuvent, 35

par exemple, se produire dans 1 à 10 sites (par exemple 1 à 5 sites, de manière appropriée 1 ou 2 sites, en particulier 1 site) et peuvent, par exemple, impliquer l'ajout de 50 acides aminés ou moins en chacun des sites (par exemple 5 20 acides aminés ou moins, en particulier 10 acides aminés ou moins, en particulier 5 acides aminés ou moins). De manière appropriée, ces insertions ne se produisent pas dans la région d'un épitope et n'ont donc pas d'incidence significative sur les propriétés immunogènes de l'antigène. Un allongement bref 10 de résidus d'histidine (par exemple 2 à 6 résidus) qui favorise l'expression et/ou la purification de l'antigène en question constitue un exemple d'insertion.

Les variants peuvent aussi être des variants où des acides aminés ont été déletés par rapport à la séquence de référence ; ces délétions peuvent, par exemple, se produire dans 1 à 10 sites (par exemple 1 à 5 sites, de manière appropriée 1 ou 2 sites, en particulier 1 site) et peuvent, par exemple, impliquer la délétion de 50 acides aminés ou moins en chacun des sites (par exemple 20 acides aminés ou 20 moins, en particulier 10 acides aminés ou moins, en particulier 5 acides aminés ou moins). De manière appropriée, ces délétions ne se produisent pas dans la région d'un épitope et n'ont donc pas d'incidence significative sur les propriétés immunogènes de l'antigène.

25 L'homme du métier saura reconnaître que le variant d'une protéine peut contenir des substitutions, des délétions et des insertions (ou l'une quelconque de ces associations).

Les variants présentent de préférence une identité d'au moins environ 70 %, de préférence au moins environ 80 %, et de 30 manière préférée entre toutes au moins environ 90 % (par exemple au moins environ 95 %, au moins environ 98 % ou au moins environ 99 %) avec la séquence de référence associée.

Les algorithmes BLAST et BLAST 2.0, qui sont décrits par Altschul et al., *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402 (1977) et 35 Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990), respectivement, sont des exemples d'algorithmes appropriés

pour déterminer le pourcentage d'identité et de similarité entre deux séquences.

Un variant approprié de la protéine CS peut être un variant où certaines parties de la protéine CS sont sous la forme d'une protéine hybride avec l'antigène de surface S du virus de l'hépatite B (HBsAg). L'antigène du variant de CS peut par exemple être sous la forme d'une protéine hybride comprenant sensiblement toute la portion C-terminale de la protéine CS, quatre répétitions en tandem ou plus de la région immunodominante de la protéine CS, et HBsAg. La protéine hybride peut comprendre une séquence qui contient au moins 160 acides aminés et qui est sensiblement homologue à la portion C-terminale de la protéine CS, mais dépourvue de la séquence d'ancre hydrophobe. La protéine CS peut être dépourvue des 12 derniers acides aminés de l'extrémité C-terminale. Elle peut par ailleurs contenir 4 ou plus, par exemple au moins 10 répétitions tétrapeptidiques Asn-Ala-Asn-Pro (NANP) ou plus.

La protéine hybride utilisée dans l'invention peut être une protéine qui comprend une portion de la protéine CS de *P. falciparum* correspondant sensiblement aux acides aminés 207-395 du clone 3D7 de *P. falciparum*, provenant de la souche NF54 fusionnée en phase par l'intermédiaire d'un lieu « linker » linéaire à l'extrémité N-terminale de HBsAg. Le lieu « linker » peut comprendre une portion de preS2 provenant de HBsAg. Les constructions de CS appropriées pour être utilisées dans la présente invention sont exposées dans le document WO 93/10152, qui a donné lieu aux États-Unis aux brevets US No. 5 928 902 et 6 169 171, ces deux documents étant intégrés par référence en vue de décrire les protéines appropriées à utiliser dans la présente invention.

La protéine hybride connue sous le nom de RTS (figure 2) [décrite dans le document WO93/10152 (où elle est désignée RTS* et dans le document WO98/05355)] est une protéine hybride spécifique utilisée dans l'invention et est constituée de :

- un résidu méthionine
- trois résidus d'acides aminés : Met Ala Pro

- un allongement de 189 acides aminés représentant les acides aminés 207 à 395 de la protéine CS de *P. falciparum*, souche 3D7

- un résidu glycine

5 - quatre résidus d'acides aminés, Pro Val Thr Asn, représentant les quatre résidus de l'extrémité carboxy-terminale de la protéine preS2 du virus de l'hépatite B (sérotype adw), et

10 - un allongement de 226 acides aminés, codé par les nucléotides 1653 à 2330, et désignant la protéine S du virus de l'hépatite B (sérotype adw).

15 Le RTS peut être sous la forme de particules mixtes de RTS,S. Les particules de RTS,S comprennent deux polypeptides, RTS et S, qui peuvent être synthétisés simultanément et former spontanément des structures particulaires composites (RTS,S).

La protéine RTS peut être exprimée dans la levure, par exemple *S. cerevisiae*. Dans ce type d'hôte, la protéine RTS sera exprimée sous forme de particules de lipoprotéines. La souche de levure hôte peut déjà porter dans son génome plusieurs copies intégrées d'une cassette d'expression de S du virus de l'hépatite B. La souche résultante synthétise alors deux polypeptides, S et RTS, qui s'unissent spontanément pour former des particules mixtes de lipoprotéines (RTS,S). Ces particules peuvent présenter les séquences CSP de l'hybride à leur surface. Les antigènes RTS et S dans ces particules mixtes peuvent être présents en un rapport spécifique, par exemple 1:4.

Le RTS,S a été revu par exemple par Vekemans et al. (2009) Vaccine 27:G67 et Regules et al. (2011) Expert Rev. Vaccines 10:589.

Dans un mode de réalisation, la première composition immunogène comprend entre 25 et 75, par exemple 50 microgrammes, de RTS,S et la seconde composition immunogène comprend entre 5 et 15, par exemple 10 microgrammes de RTS,S.

35 Dans un autre mode de réalisation, la première composition immunogène comprend entre 12,5 et 37,5, par exemple 25 microgrammes, de RTS,S et la seconde composition

immunogène comprend entre 2,5 et 7,5, par exemple 5 microgrammes de RTS,S.

Dans un autre mode de réalisation, l'antigène en commun est dérivé de la protéine CS de *P. vivax*. Des variants 5 appropriés de la protéine CS de *P. vivax* ont été décrits. Par exemple, le document WO2008009652, publié aux États-Unis sous la référence US20100150998 et intégré par référence en vue de décrire les protéines appropriées à utiliser dans la présente invention, décrit des protéines hybrides de fusion immunogènes 10 comprenant : a. au moins une unité répétée dérivée de la région répétée d'une protéine circumsporozoïte de type I de *P. vivax*, b. au moins une unité répétée dérivée de la région répétée d'une protéine circumsporozoïte de type II de *P. vivax*, et c. l'antigène de surface S dérivé du virus de 15 l'hépatite B, ou un fragment. La séquence SEQ ID NO : 17 du document WO2008009652 décrit une protéine hybride de fusion spécifique, appelée CVS-S. Lorsqu'elle s'exprime conjointement avec l'antigène de surface S dérivé du virus de l'hépatite B, il se forme des particules de CSV-S,S (WO2008009652). Ces 20 particules peuvent aussi être utilisées dans la présente invention.

Dans un autre mode de réalisation, l'antigène en commun est un mélange de particules comprenant RTS et CSV-S. Ces particules ont été décrites dans le document WO2008009650, 25 publié aux États-Unis sous la référence US20100062028 et intégré par référence en vue de décrire les protéines appropriées à utiliser dans la présente invention.

Schémas d'immunisation, populations cibles et modes 30 d'administration

Comme décrit précédemment, la méthode de l'invention consiste à administrer une première composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un premier adjuvant, puis une seconde composition immunogène comprenant un ou plusieurs 35 antigènes et un second adjuvant.

Dans un mode de réalisation, le délai entre l'administration de la première composition et

l'administration de la seconde composition est compris entre 1 et 24 mois, par exemple entre 1 et 18 mois, par exemple entre 1 et 12 mois, par exemple entre 2 et 10 mois, par exemple entre 3 et 9 mois, par exemple entre 4 et 8 mois.

5 La méthode de l'invention peut comprendre une ou plusieurs autres administrations de compositions immunogènes en plus de l'administration de la première composition et de l'administration de la seconde composition. Le sujet peut, par exemple, recevoir plusieurs doses de la première composition avant l'administration de la seconde composition. Ainsi, par exemple, dans un mode de réalisation, la première composition est administrée deux fois avant l'administration de la seconde composition. Le sujet peut, sinon ou en plus, recevoir plusieurs autres doses de la seconde composition après la première administration de la seconde composition. Dans un mode de réalisation de la méthode de l'invention, la seconde composition est ainsi administrée une ou plusieurs autres fois. Voici les schémas possibles, non limitatifs :

- a. Première composition puis seconde composition
 - 20 b. Première composition puis première composition puis seconde composition
 - c. Première composition puis seconde composition puis seconde composition
 - d. Première composition puis première composition puis première composition puis seconde composition
 - 25 e. Première composition puis première composition puis seconde composition puis seconde composition
 - f. Première composition puis seconde composition puis seconde composition puis seconde composition
- 30 Les délais pour le schéma b. peuvent par exemple être 0, 1, 5 (c'est-à-dire Mois 0, Mois 1, Mois 5) ou 0, 1, 6 ou 0, 1, 7 ou 0, 1, 8 ou 0, 1, 12. De même, les délais pour le schéma c. peut par exemple être 0, 1, 5 ou 0, 1, 6 ou 0, 1, 7 ou 0, 1, 8 ou 0, 1, 12. Des délais plus courts pour les schémas b. et c. 35 peuvent par exemple être Jour 0, Jour 7, Jour 14.

Dans un autre mode de réalisation, la seconde composition peut par exemple être administrée sous forme d'un rappel annuel récurrent, par exemple pendant 1 à 5 ans ou plus.

Le sujet humain à traiter selon la méthode de l'invention 5 peut être de n'importe quel âge. La méthode de l'invention peut être utilisée dans le cadre d'un programme d'éradication du paludisme, auquel cas il peut être utile d'immuniser sensiblement la population tout entière, c'est-à-dire tout groupe d'âge. Dans un mode de réalisation, cependant, le sujet 10 humain a plus de 18 ans lorsque la première composition est administrée. Dans un autre mode de réalisation, le sujet humain a moins de cinq ans lorsque la première composition est administrée. Dans un autre mode de réalisation, le sujet est âgé de 6 à 12 semaines ou de 5 à 17 mois. Les sujets voyageant 15 dans les régions où le paludisme est endémique constituent une autre population particulièrement appropriée.

La première et la seconde composition peuvent être administrées par différentes voies appropriées, notamment la voie parentérale, par exemple intramusculaire ou sous-cutanée.

20 Dans un mode de réalisation particulier, la seconde composition est administrée en intradermique. Le terme intradermique, tel qu'il est utilisé ici, veut faire référence à l'application d'antigènes dans le derme et/ou l'épiderme du sujet humain. L'application intradermique d'une composition 25 immunogène peut être effectuée par n'importe quelle méthode cutanée connue de l'homme du métier, y compris mais sans s'y limiter, au moyen d'un dispositif d'injection court (dispositif comprenant une micro-aiguille d'environ 0,2 à environ 0,6 mm de longueur) ou au moyen d'un timbre cutané. 30 Les dispositifs appropriés utilisés avec les vaccins cutanés décrits ici comprennent les dispositifs à micro-aiguille par exemple ceux décrits dans les documents US 4,886,499, US 5,190,521, US 5,328,483, US 5,527,288, US 4,270,537, US 5,015,235, US 5,141,496, US 5,417,662 et EP1092444. Les 35 vaccins cutanés peuvent aussi être administrés par des dispositifs qui limitent la profondeur de pénétration effective de l'aiguille dans la peau, par exemple ceux décrits

dans le document WO99/34850. Les dispositifs d'injection à jet qui administrent des vaccins liquides dans le derme par l'intermédiaire d'un injecteur à jet liquide ou d'une aiguille conviennent également. Les dispositifs d'administration de 5 poudre/particule balistique qui utilisent un gaz comprimé pour que le vaccin sous forme de poudre traverse rapidement les couches externes de la peau pour accéder au derme conviennent également. Les timbres cutanés comprennent généralement un support contenant un substrat solide. Les timbres administrent 10 l'antigène et l'adjuvant de l'invention dans le derme ou l'épiderme. Dans un mode de réalisation particulier, les timbres de la présente invention comprennent plusieurs microprojections. Les microprojections peuvent avoir n'importe quelle forme appropriée pour pouvoir percer le stratum 15 corneum, l'épiderme et/ou le derme, et administrer l'antigène et l'adjuvant dans l'épiderme ou le derme. Dans un mode de réalisation particulier, les microprojections sont biodégradables et comprennent un polymère biodégradable.

Les compositions immunogènes utilisées dans l'invention 20 peuvent être fabriquées en mélangeant le ou les antigènes et l'adjuvant. Ledit antigène peut être fourni sous forme lyophilisée ou dans une préparation liquide. Pour chaque composition, un kit peut être fourni comprenant un premier récipient contenant l'antigène et un second récipient 25 contenant l'adjuvant.

De manière appropriée, les compositions immunogènes selon la présente invention ont un volume-dose humain compris entre 0,05 ml et 1 ml, par exemple entre 0,1 et 0,5 ml, en particulier un volume-dose d'environ 0,5 ml, ou 0,7 ml. Le 30 volume de la seconde composition immunogène peut être réduit, et être compris par exemple entre 0,05 ml et 0,5 ml, par exemple entre 0,1 et 0,2 ml. Les volumes des compositions utilisés peuvent dépendre des voies d'administration, les plus petits volumes étant administrés par voie intradermique.

35 Les références figurant dans la présente demande, y compris les demandes de brevet et les brevets délivrés, sont toutes intégrées ici par référence. Les termes « comprenant »,

« comprennent » et « comprend », utilisés ici, peuvent éventuellement être substitués par les termes « consistant en », « constitués par » et « constitué par », respectivement. L'exemple suivant permet de poursuivre la description de la 5 présente invention, mais n'est pas limitatif pour autant :

EXAMPLE : Vaccination utilisant le RTS,S et l'adjuvant AS01 et « challenge » expérimental du paludisme.

Vaccin

10 Le RTS,S est produit dans une levure (*S. cerevisiae*) essentiellement comme décrit dans le document WO 93/10152.

Une dose « standard » de RTS,S/AS01 contient 50 µg d'antigène RTS,S lyophilisé reconstitué dans 500 µl d'adjuvant AS01 contenant les immunostimulants 3D-MPL® 15 (GlaxoSmithKline Biologicals, Montana, USA) et QS21 (50 µg de chaque) dans une préparation avec liposomes.

Une « fraction de dose » de RTS,S/AS01 représente 100 µl de la solution ci-dessus, c'est-à-dire qu'elle contient 10 µg d'antigène RTS,S lyophilisé, 10 µg de 3D-MPL et 10 µg de QS21 20 avec liposomes.

Méthodologie

Un essai clinique a été effectué pour évaluer la tolérance, la réactogénicité et l'efficacité d'un vaccin 25 antipaludique contenant l'antigène RTS,S et l'adjuvant AS01 vis-à-vis d'un « challenge aux sporozoïtes », ledit vaccin étant administré en intramusculaire chez des volontaires sains âgés de 18 à 50 ans n'ayant jamais été touchés par le paludisme. Le groupe « fraction de dose administrée 30 ultérieurement » a reçu deux doses standard, à 0 et 1 mois, et une fraction de dose [un cinquième (1/5^e) de la dose standard] à 7 mois. Le groupe « 0, 1, 2 mois » a reçu trois doses standard à un mois d'intervalle.

46 sujets ont été recrutés en deux cohortes et ont été 35 répartis dans les groupes susmentionnés : « fraction de dose administrée ultérieurement » (30 sujets) et « 0, 1, 2 mois » (16 sujets). 12 autres sujets ont été inclus dans le groupe

témoin « infectiosité », c'est-à-dire des volontaires qui n'ont reçu aucune immunisation, mais qui ont été soumis au « challenge aux sporozoïtes ».

Pour chaque cohorte, les volontaires ont été soumis à un 5 « challenge primaire » standardisé du paludisme (Chulay et al. (1986) *Am J Trop Med Hyg.* 35:66), également connu sous le nom de « challenge aux sporozoïtes », environ 3 semaines après la troisième dose de chacun des groupes ci-dessus. Le « challenge primaire » consistait à laisser cinq moustiques *Anopheles* 10 *stevensi* infectés par le sporozoïte de *P. falciparum* piquer chacun des volontaires pendant une période de cinq minutes.

Après le « challenge », les sujets ont été suivis quotidiennement pendant au moins 30 jours pour étudier chez eux le développement ou l'absence de développement de 15 l'infection. La détection de l'infection consistait à repérer, par microscopie optique et après coloration de May-Grünwald Giemsa, des parasites au stade asexué dans du sang périphérique. La présence de parasites au stade asexué indique que le sujet se trouve à un stade d'infection productive, avec 20 des parasites qui ont été libérés du foie et qui progressent vers le stade érythrocytaire, ce qui signifie que la protection stérile vis-à-vis du « challenge » n'est pas effective.

Au premier signe d'infection, les sujets ont été déclarés 25 positifs au paludisme et ont reçu une dose curative de chloroquine. La protection stérile, autrement dit le sujet ne développe jamais de parasitémie de stade asexué, constituait le critère d'efficacité primaire. Par ailleurs, le délai entre le « challenge » et l'apparition d'une parasitémie chez ceux 30 qui n'étaient pas complètement protégés a été enregistré. La protection a été évaluée par la proportion de participants immunisés qui sont restés exempts de l'infection à *P. falciparum* après « challenge aux sporozoïtes » et par un délai 35 de la période d'incubation parasitaire conduisant à l'infection.

L'efficacité vaccinale (EV) est définie par le calcul : $100 * (1 - \text{Risque relatif})$. Le test exact de probabilité de Fisher

a été utilisé pour comparer l'incidence du paludisme entre chacun des groupes « fraction de dose administrée ultérieurement » et « 0, 1, 2 mois » et le groupe témoin « infectiosité ».

5

Résultats

Groupes	Nombre de sujets vaccinés	Nombre de sujets vaccinés développant une parasitémie après le « challenge »**	Estimation de l'efficacité vaccinale (EV)
Fraction de dose administrée ultérieurement	30	4	87
0, 1, 2 mois	16	6	63

* Test de Mantel-Haenszel (délai du développement d'une parasitémie), Fx par rapport à RRR $p = 0,0455$.

10 ** Parasitémie mesurée à J28 après le « challenge ».

La puissance de l'étude n'a pas permis de détecter une supériorité du groupe « fraction de dose administrée ultérieurement » par rapport au groupe « 0, 1, 2 mois », et la différence entre les deux groupes n'est pas statistiquement

15 significative (augmentation de l'EV du groupe Fx par rapport au groupe RRR = 57,0 %, [-7,9-88,3], $p=0,0741$, test de Fisher). Cependant, l'analyse de la différence du délai de survie du groupe « fraction de dose administrée ultérieurement » par rapport au groupe « 0, 1, 2 mois », qui tient compte du délai d'apparition de l'infection dans le 20 groupe « fraction de dose administrée ultérieurement », a bien une signification statistique ($p = 0,0455$, test de Mantel-Haensze).

Par ailleurs, l'analyse comparant les résultats du bras « fraction de dose administrée ultérieurement » de l'étude par rapport à des données groupées concernant 95 sujets étudiés dans cinq essais RTS,S/AS01 de 0, 1, 2 mois qui sont terminés à ce jour (données non présentées), indique

que les résultats obtenus dans la présente étude relèvent très peu probablement du hasard ($p = 0,0045$, test de Fisher).

Revendications

1. Méthode permettant d'induire une réponse immunitaire chez l'homme et consistant à administrer au sujet une première 5 composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un premier adjuvant, puis une seconde composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un second adjuvant, la première et la seconde composition ayant au moins un antigène en commun, le premier et le second adjuvant comprenant un 10 agoniste de TLR et/ou une saponine immunologiquement active et ayant au moins l'un de ces deux composants en commun et

- le second adjuvant contenant une quantité du composant en commun plus faible que le premier adjuvant, et/ou
- 15 • l'antigène en commun étant le RTS,S et la seconde composition contenant une quantité de RTS,S plus faible que la première composition,
à condition que la première et la seconde composition ne comprennent pas toutes les deux le RTS,S et la QS21 et le 3D-
20 MPL associés à une émulsion huile dans l'eau.

2. Méthode selon la revendication 1, le premier adjuvant et le second adjuvant étant constitués des mêmes composants.

25 3. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, le premier adjuvant et le second adjuvant étant constitués des mêmes composants dans les mêmes proportions relatives.

30 4. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, le second adjuvant contenant une quantité du composant en commun plus faible que le premier adjuvant.

35 5. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, la quantité du composant en commun présente dans le second adjuvant étant au moins 10 % plus faible, par exemple au moins 25 % plus faible, par exemple au moins deux

fois plus faible, par exemple au moins trois fois plus faible, par exemple au moins quatre fois plus faible, par exemple au moins cinq fois plus faible, par exemple au moins six fois plus faible, par exemple au moins sept fois plus faible, par 5 exemple au moins huit fois plus faible, par exemple au moins neuf fois plus faible, par exemple au moins dix fois plus faible, par exemple au moins 15 fois plus faible, par exemple au moins 20 fois plus faible que la quantité présente dans le premier adjuvant.

10

6. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, la quantité du composant en commun présente dans le second adjuvant étant entre 2 et 50 fois plus faible, par exemple entre 2 et 20 fois plus faible, par exemple entre 2 et 15 fois plus faible, par exemple entre 2 et 10 fois plus faible, par exemple entre 3 et 7 fois plus faible, par exemple entre 4 et 6 fois plus faible que la quantité présente dans le premier adjuvant.

20

7. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, le premier et le second adjuvant comprenant un agoniste de TLR, et l'agoniste de TLR étant un agoniste de TLR4, par exemple le 3D-MPL.

25

8. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, le premier et le second adjuvant comprenant une saponine immunologiquement active, par exemple la QS21, et éventuellement un stérol.

30

9. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, le premier et le second adjuvant comprenant le 3D-MPL et la QS21 dans une préparation liposomale.

35

10. Méthode selon la revendication 9, le premier adjuvant comprenant entre 25 et 75, par exemple 50 microgrammes, de 3D-MPL et entre 25 et 75, par exemple 50 microgrammes de QS21 et le second adjuvant comprenant entre 5 et 15, par exemple

10 microgrammes de 3D-MPL et entre 5 et 15, par exemple 10 microgrammes de QS21.

11. Méthode selon la revendication 9, le premier adjuvant 5 comprenant entre 12,5 et 37,5, par exemple 25 microgrammes, de 3D-MPL et entre 12,5 et 37,5, par exemple 25 microgrammes de QS21 et le second adjuvant comprenant entre 2,5 et 7,5, par exemple 5 microgrammes de 3D-MPL et entre 2,5 et 7,5, par exemple 5 microgrammes de QS21.

10

12. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, le premier adjuvant et/ou le second adjuvant ne comprenant pas d'aluminium.

15

13. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, la seconde composition contenant une quantité de l'antigène en commun plus faible que la première composition.

20

14. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, la quantité de l'antigène en commun présente dans la seconde composition étant au moins 10 % plus faible, par exemple au moins 25 % plus faible, par exemple au moins deux fois plus faible, par exemple au moins trois fois plus faible, par exemple au moins quatre fois plus faible, par exemple au moins cinq fois plus faible, par exemple au moins six fois plus faible, par exemple au moins sept fois plus faible, par exemple au moins huit fois plus faible, par exemple au moins neuf fois plus faible, par exemple au moins dix fois plus faible, par exemple au moins 15 fois plus faible, par exemple au moins 20 fois plus faible que la quantité présente dans la première composition.

25

15. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, la quantité de l'antigène en commun présente dans la seconde composition étant entre 2 et 50 fois plus faible, par exemple entre 2 et 20 fois plus faible, par exemple entre 2 et 15 fois plus faible, par exemple entre 2 et 10 fois plus

faible, par exemple entre 3 et 7 fois plus faible, par exemple entre 4 et 6 fois plus faible que la quantité présente dans la première composition.

5 16. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, les antigènes contenus dans la première et la seconde composition étant tous identiques.

10 17. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, l'antigène en commun étant un antigène de *Plasmodium*, par exemple un antigène de *P. falciparum* ou de *P. vivax*.

15 18. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, l'antigène en commun étant la protéine circumsporozoite ou un fragment immunogène ou un variant de celle-ci.

20 19. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, l'antigène en commun étant sélectionné dans le groupe constitué par : RTS, CSV-S, RTS,S et CSV-S,S et des particules mixtes comprenant RTS et CSV-S.

25 20. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, le délai entre l'administration de la première composition et l'administration de la seconde composition étant compris entre 1 et 24 mois, par exemple entre 1 et 18 mois, par exemple entre 1 et 12 mois, par exemple entre 2 et 10 mois, par exemple entre 3 et 9 mois, par exemple entre 4 et 30 8 mois.

35 21. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, la première composition immunogène étant administrée deux fois avant l'administration de la seconde composition immunogène.

22. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, la seconde composition étant administrée une ou plusieurs fois après sa première administration.

5 23. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, le sujet humain étant âgé de plus de 18 ans au moment de l'administration de la première composition.

10 24. Méthode selon l'une quelconque des revendications 1 à 21, le sujet humain étant âgé de moins de cinq ans au moment de l'administration de la première composition.

15 25. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes, la seconde administration étant effectuée par voie intradermique.

20 26. Composition immunogène destinée à être utilisée dans une méthode permettant d'induire une réponse immunitaire chez l'homme, la méthode consistant à administrer au sujet une première composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un premier adjuvant, puis une seconde composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un second adjuvant, la première et la seconde composition ayant au moins un antigène en commun, le premier et le second adjuvant comprenant un agoniste de TLR et/ou une saponine immunologiquement active et ayant au moins l'un de ces deux composants en commun et

- le second adjuvant contenant une quantité du composant en commun plus faible que le premier adjuvant, et/ou
- l'antigène en commun étant le RTS,S et la seconde composition contenant une quantité de RTS,S plus faible que la première composition,

30 à condition que la première et la seconde composition ne comprennent pas toutes les deux le RTS,S et la QS21 et le 3D-MPL associés à une émulsion huile dans l'eau.

27. Composition immunogène selon la revendication 26 comprenant une ou plusieurs des caractéristiques de l'une quelconque des revendications 2 à 25.

5 28. Utilisation d'une seconde composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un second adjuvant dans la fabrication d'un médicament permettant d'induire une réponse immunitaire chez l'homme, ledit sujet ayant déjà reçu une première composition immunogène comprenant un ou plusieurs 10 antigènes et un premier adjuvant, la première et la seconde composition ayant au moins un antigène en commun, le premier et le second adjuvant comprenant un agoniste de TLR et/ou une saponine immunologiquement active et ayant au moins l'un de ces deux composants en commun

- 15 • le second adjuvant contenant une quantité du composant en commun plus faible que le premier adjuvant, et/ou
• l'antigène en commun étant le RTS,S et la seconde composition contenant une quantité de RTS,S plus 20 faible que la première composition,

à condition que la première et la seconde composition ne comprennent pas toutes les deux le RTS,S et la QS21 et le 3D-MPL associés à une émulsion huile dans l'eau.

25 29. Utilisation selon la revendication 28 comprenant une ou plusieurs des caractéristiques de l'une quelconque des revendications 2 à 25.

30 30. Méthode permettant d'induire une réponse immunitaire chez l'homme et consistant à administrer au sujet une première composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un premier adjuvant, puis une seconde composition immunogène comprenant un ou plusieurs antigènes et un second adjuvant, la première et la seconde composition ayant au moins un antigène 35 en commun, le premier et le second adjuvant comprenant le 3D-MPL et la QS21 dans une préparation liposomale dans les mêmes proportions relatives, la seconde composition contenant une

quantité d'antigène plus faible et/ou une quantité d'adjuvant plus faible que la première composition.

31. Méthode selon la revendication 30 comprenant une ou 5 plusieurs des caractéristiques de l'une quelconque des revendications 2 à 25.

32. Méthode permettant d'induire chez l'homme une réponse immunitaire contre le paludisme et consistant à administrer au 10 sujet une première composition immunogène comprenant le RTS,S et un premier adjuvant, puis une seconde composition immunogène comprenant le RTS,S et un second adjuvant, le premier et le second adjuvant comprenant un agoniste de TLR4 et/ou une saponine immunologiquement active dans les mêmes 15 proportions relatives, la seconde composition contenant une quantité d'adjuvant plus faible que la première composition, à condition que la première composition ne comprenne pas toutes le RTS,S et la QS21 et le 3D-MPL associés à une émulsion huile dans l'eau.

20

33. Méthode selon la revendication 32 comprenant une ou plusieurs des caractéristiques de l'une quelconque des revendications 2 à 25.

25

34. Méthode permettant d'induire chez l'homme une réponse immunitaire contre le paludisme et consistant à administrer au sujet une première composition immunogène comprenant le RTS,S et un premier adjuvant, puis une seconde composition immunogène comprenant le RTS,S et un second adjuvant, le 30 premier et le second adjuvant étant constitués de 3D-MPL et de QS21 dans une préparation liposomale dans les mêmes proportions relatives, la seconde composition contenant une quantité d'antigène plus faible et/ou une quantité d'adjuvant plus faibles que la première composition.

35

35. Méthode selon la revendication 34 comprenant une ou plusieurs des caractéristiques de l'une quelconque des revendications 2 à 25.

5 36. Méthode permettant d'induire une réponse immunitaire chez l'homme et consistant à administrer au sujet une première composition immunogène comprenant le RTS,S et un adjuvant, puis une seconde composition immunogène comprenant RTS,S, l'adjuvant comprenant un agoniste de TLR et/ou une saponine
10 immunologiquement active, la seconde composition immunogène ne comprenant pas d'adjuvant.

15 37. Méthode selon la revendication 36, l'adjuvant comprenant une ou plusieurs des caractéristiques de l'une quelconque des revendications 7 à 9 ou 12.

20 38. Méthode selon la revendication 36 ou 37, comprenant une ou plusieurs des caractéristiques de l'une quelconque des revendications 13 à 25.

39. Méthode selon l'une quelconque des revendications 36 à 38, la première et la seconde composition comprenant toutes les deux 25 microgrammes de RTS,S ou 50 microgrammes de RTS,S.

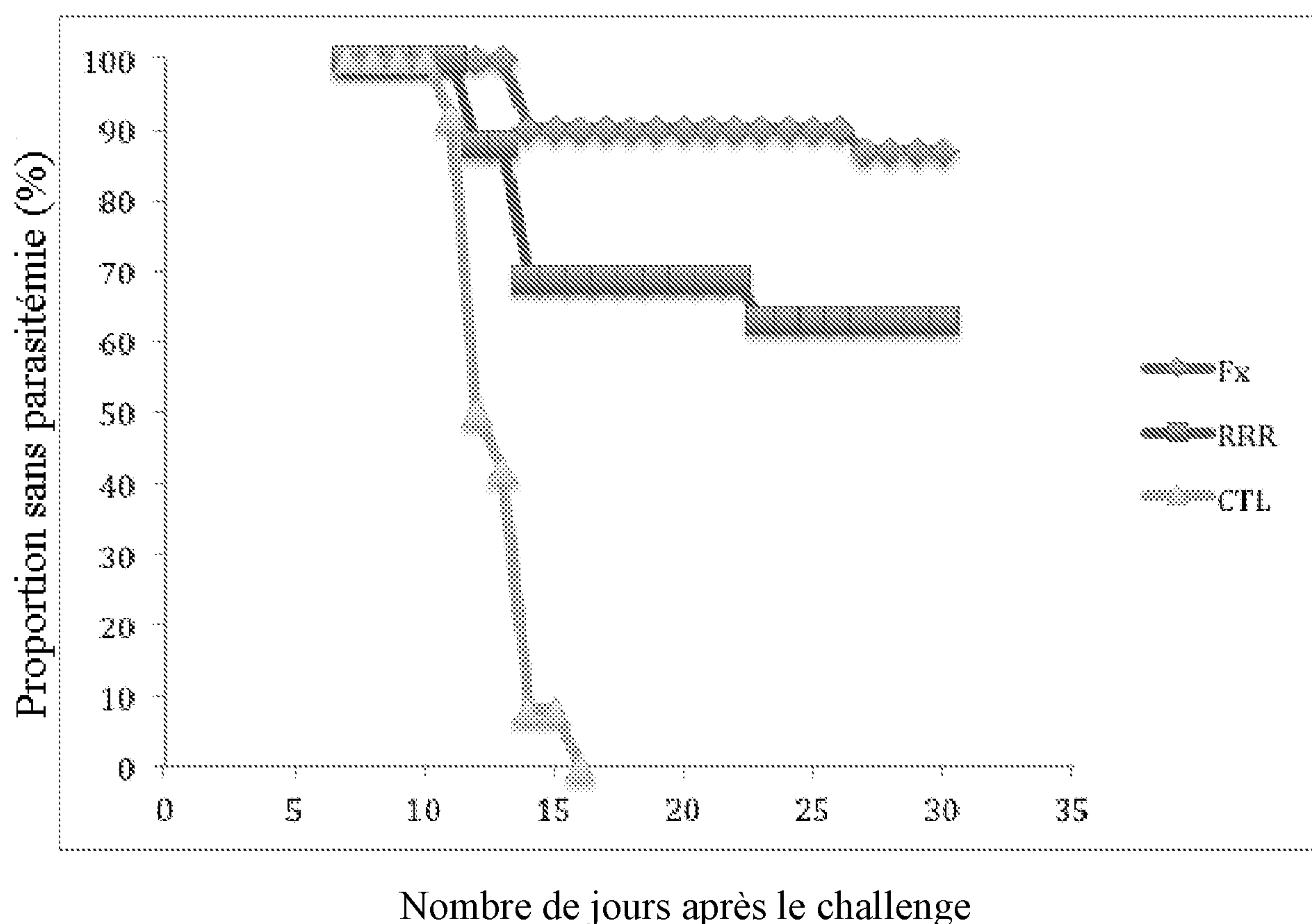
Figure 1

Figure 2

Met Met Ala Pro Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala
1 5 10 15

Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala
20 25 30

Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala
35 40 45

Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala
50 55 60

Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Lys
65 70 75 80

Asn Asn Gln Gly Asn Gly Gln Gly His Asn Met Pro Asn Asp Pro Asn
85 90 95

Arg Asn Val Asp Glu Asn Ala Asn Ala Asn Ser Ala Val Lys Asn Asn
100 105 110

Asn Asn Glu Glu Pro Ser Asp Lys His Ile Lys Glu Tyr Leu Asn Lys
115 120 125

Ile Gln Asn Ser Leu Ser Thr Glu Trp Ser Pro Cys Ser Val Thr Cys
130 135 140

Gly Asn Gly Ile Gln Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn Lys Pro
145 150 155 160

Lys Asp Glu Leu Asp Tyr Ala Asn Asp Ile Glu Lys Lys Ile Cys Lys
165 170 175

Met Glu Lys Cys Ser Ser Val Phe Asn Val Val Asn Ser Ser Ile Gly
180 185 190

Leu Gly Pro Val Thr Asn Met Glu Asn Ile Thr Ser Gly Phe Leu Gly

195 200 205
Pro Leu Leu Val Leu Gln Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu
210 215 220

Thr Ile Pro Gln Ser Leu Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu
225 230 235 240

Gly Gly Ser Pro Val Cys Leu Gly Gln Asn Ser Gln Ser Pro Thr Ser
245 250 255

Asn His Ser Pro Thr Ser Cys Pro Pro Ile Cys Pro Gly Tyr Arg Trp
260 265 270

Met Cys Leu Arg Arg Phe Ile Ile Phe Leu Phe Ile Leu Leu Cys
275 280 285

Leu Ile Phe Leu Leu Val Leu Leu Asp Tyr Gln Gly Met Leu Pro Val
290 295 300

Cys Pro Leu Ile Pro Gly Ser Thr Thr Asn Thr Gly Pro Cys Lys
305 310 315 320

Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Asn Ser Met Phe Pro Ser Cys Cys
325 330 335

Cys Thr Lys Pro Thr Asp Gly Asn Cys Thr Cys Ile Pro Ile Pro Ser
340 345 350

Ser Trp Ala Phe Ala Lys Tyr Leu Trp Glu Trp Ala Ser Val Arg Phe
355 360 365

Ser Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu
370 375 380

Ser Pro Thr Val Trp Leu Ser Ala Ile Trp Met Met Trp Tyr Trp Gly
385 390 395 400

Pro Ser Leu Tyr Ser Ile Val Ser Pro Phe Ile Pro Leu Leu Pro Ile
405 410 415

Phe Phe Cys Leu Trp Val Tyr Ile
420

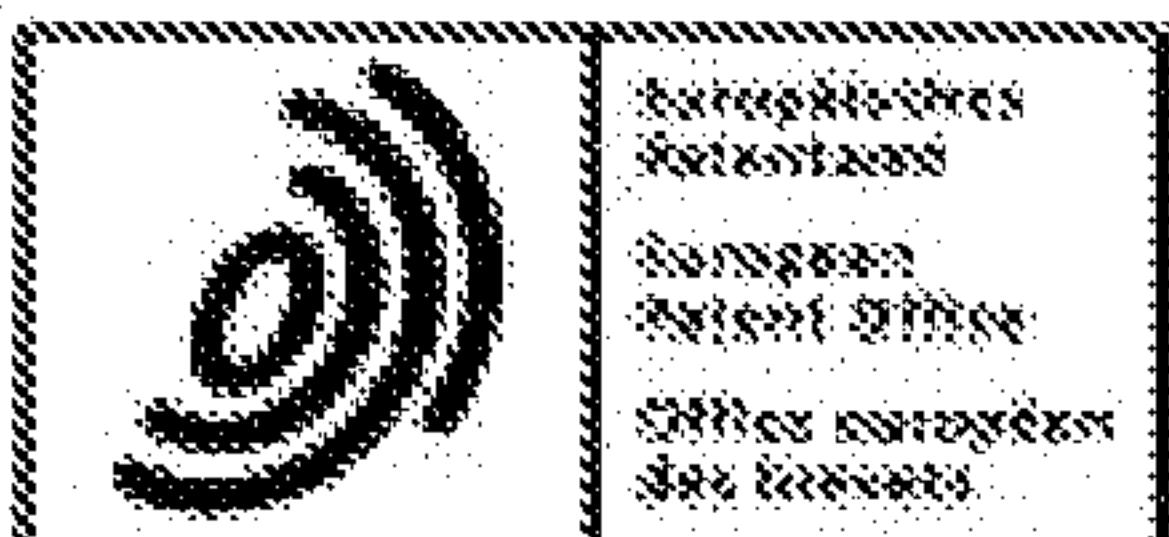
Figure 3

<213> gE tronquée de VZV

<400> 1

Met	Gly	Thr	Val	Asn	Lys	Pro	Val	Val	Gly	Val	Leu	Met	Gly	Phe	Gly
1															15
Ile	Ile	Thr	Gly	Thr	Leu	Arg	Ile	Thr	Asn	Pro	Val	Arg	Ala	Ser	Val
															30
Leu	Arg	Tyr	Asp	Asp	Phe	His	Ile	Asp	Glu	Asp	Lys	Leu	Asp	Thr	Asn
															45
Ser	Val	Tyr	Glu	Pro	Tyr	Tyr	His	Ser	Asp	His	Ala	Glu	Ser	Ser	Trp
															60
Val	Asn	Arg	Gly	Glu	Ser	Ser	Arg	Lys	Ala	Tyr	Asp	His	Asn	Ser	Pro
65															80
Tyr	Ile	Trp	Pro	Arg	Asn	Asp	Tyr	Asp	Gly	Phe	Leu	Glu	Asn	Ala	His
															95
Glu	His	His	Gly	Val	Tyr	Asn	Gln	Gly	Arg	Gly	Ile	Asp	Ser	Gly	Glu
															110
Arg	Leu	Met	Gln	Pro	Thr	Gln	Met	Ser	Ala	Gln	Glu	Asp	Leu	Gly	Asp
															125
Asp	Thr	Gly	Ile	His	Val	Ile	Pro	Thr	Leu	Asn	Gly	Asp	Asp	Arg	His
130															140
Lys	Ile	Val	Asn	Val	Asp	Gln	Arg	Gln	Tyr	Gly	Asp	Val	Phe	Lys	Gly
145															160
Asp	Leu	Asn	Pro	Lys	Pro	Gln	Gly	Gln	Arg	Leu	Ile	Glu	Val	Ser	Val
															175
Glu	Glu	Asn	His	Pro	Phe	Thr	Leu	Arg	Ala	Pro	Ile	Gln	Arg	Ile	Tyr
															190
Gly	Val	Arg	Tyr	Thr	Glu	Thr	Trp	Ser	Phe	Leu	Pro	Ser	Leu	Thr	Cys
															205
Thr	Gly	Asp	Ala	Ala	Pro	Ala	Ile	Gln	His	Ile	Cys	Leu	Lys	His	Thr
210															220
Thr	Cys	Phe	Gln	Asp	Val	Val	Val	Asp	Val	Asp	Cys	Ala	Glu	Asn	Thr
225															240
Lys	Glu	Asp	Gln	Leu	Ala	Glu	Ile	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gln	Gly	Lys	Lys
															255
Glu	Ala	Asp	Gln	Pro	Trp	Ile	Val	Val	Asn	Thr	Ser	Thr	Leu	Phe	Asp

260	265	270
Glu Leu Glu Leu Asp Pro Pro Glu Ile Glu Pro Gly Val Leu Lys Val		
275	280	285
Leu Arg Thr Glu Lys Gln Tyr Leu Gly Val Tyr Ile Trp Asn Met Arg		
290	295	300
Gly Ser Asp Gly Thr Ser Thr Tyr Ala Thr Phe Leu Val Thr Trp Lys		
305	310	315
Gly Asp Glu Lys Thr Arg Asn Pro Thr Pro Ala Val Thr Pro Gln Pro		
325	330	335
Arg Gly Ala Glu Phe His Met Trp Asn Tyr His Ser His Val Phe Ser		
340	345	350
Val Gly Asp Thr Phe Ser Leu Ala Met His Leu Gln Tyr Lys Ile His		
355	360	365
Glu Ala Pro Phe Asp Leu Leu Leu Glu Trp Leu Tyr Val Pro Ile Asp		
370	375	380
Pro Thr Cys Gln Pro Met Arg Leu Tyr Ser Thr Cys Leu Tyr His Pro		
385	390	395
Asn Ala Pro Gln Cys Leu Ser His Met Asn Ser Gly Cys Thr Phe Thr		
405	410	415
Ser Pro His Leu Ala Gln Arg Val Ala Ser Thr Val Tyr Gln Asn Cys		
420	425	430
Glu His Ala Asp Asn Tyr Thr Ala Tyr Cys Leu Gly Ile Ser His Met		
435	440	445
Glu Pro Ser Phe Gly Leu Ile Leu His Asp Gly Gly Thr Thr Leu Lys		
450	455	460
Phe Val Asp Thr Pro Glu Ser Leu Ser Gly Leu Tyr Val Phe Val Val		
465	470	475
Tyr Phe Asn Gly His Val Glu Ala Val Ala Tyr Thr Val Val Ser Thr		
485	490	495
Val Asp His Phe Val Asn Ala Ile Glu Glu Arg Gly Phe Pro Pro Thr		
500	505	510
Ala Gly Gln Pro Pro Ala Thr Thr Lys Pro Lys Glu Ile Thr Pro Val		
515	520	525
Asn Pro Gly Thr Ser Pro Leu Ile Arg Tyr Ala Ala Trp Thr Gly Gly		
530	535	540
Leu Ala		
545		

**RAPPORT DE RECHERCHE**

établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
le 28 mars 1984

BO 11108
BE 201505209

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Succincte résumé	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (IPC)
X, D	<p>STOUTE J A ET AL: "A PRELIMINARY EVALUATION OF A RECOMBINANT CIRCUMSPOROZOITE PROTEIN VACCINE AGAINST PLASMODIUM FALCIPARUM MALARIA", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, MASSACHUSETTS MEDICAL SOCIETY, US, vol. 336, no. 2, 9 janvier 1997 (1997-01-09), pages 86-91, XP000990284.</p> <p>ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJM199701093360202</p> <p>* le document en entier *</p> <p>-----</p> <p>HILL ADRIAN V S: "Vaccines against malaria", PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY OF LONDON. SERIES B: BIOLOGICAL SCIENCES, ROYAL SOCIETY OF LONDON, LONDON, GB, vol. 366, no. 1579, 12 octobre 2011 (2011-10-12), pages 2806-2814, XP002700406.</p> <p>ISSN: 0080-4622, DOI: 10.1098/rstb.2011.0091</p> <p>* le document en entier *</p> <p>-----</p> <p>W. R. BALLOU: "The development of the RTS,S malaria vaccine candidate: challenges and lessons", PARASITE IMMUNOLOGY, vol. 31, no. 9, 1 septembre 2009 (2009-09-01), pages 492-500, XP055208451.</p> <p>ISSN: 0141-9838, DOI: 10.1111/j.1365-3024.2009.01143.x</p> <p>* le document en entier *</p> <p>-----</p>	1-12, 16-31, 34, 35	1NY, A61K39/002, A61K39/015, A61K39/29, A61K39/39
A		1-12, 16-31, 34, 35	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
X		1-9, 12-29, 32, 33	A61K

1

Signature de la personne

7 septembre 2015

Scheffzyk, Irmgard

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS

- X : particulièrement pertinent à lui seul
- Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
- A : article prioritaire
- C : élégation mentionnée
- P : document précurseur

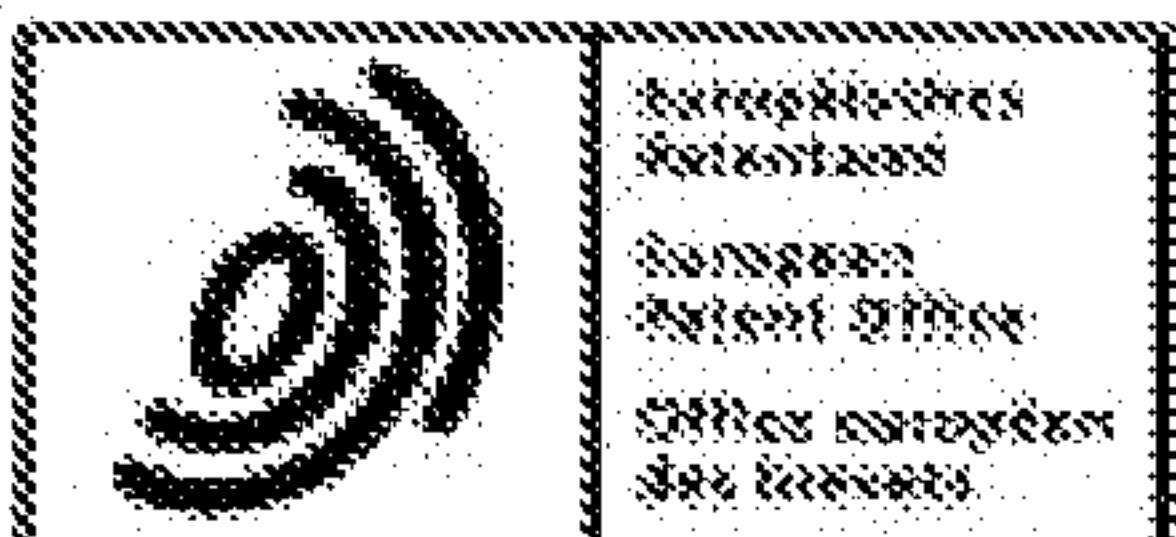
Y : donne au principe à la base de l'invention

S : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date

O : cité dans la demande

L : cité pour d'autres raisons

E : membre de la même famille, document correspondant

**RAPPORT DE RECHERCHE**

établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

BO 11108
BE 201505209

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Classification mentionnée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (IPC)
X	<p>STOUTE J A ET AL: "LONG-TERM EFFICACY AND IMMUNE RESPONSES FOLLOWING IMMUNIZATION WITH THE RTS,S MALARIA VACCINE", JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES, JID, UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS, CHICAGO, IL, vol. 178, no. 4, 1 octobre 1998 (1998-10-01), pages 1139-1144, XP008046110, ISSN: 0822-1899, DOI: 10.1086/515657 * Le document en entier *</p> <p>*****</p>	1-12, 16-31, 34,35	
A	<p>ELENA MATA ET AL: "Malaria Vaccine Adjuvants: Latest Update and Challenges in Preclinical and Clinical Research", BIOMED RESEARCH INTERNATIONAL, vol. 6, no. 5, 1 janvier 2013 (2013-01-01), pages 599-19, XP055208483, ISSN: 2314-6133, DOI: 10.1016/j.bmip.2008.08.039 * Le document en entier *</p> <p>*****</p>	1-35	
A	<p>L. C. PAOLETTI ET AL: "Effects of Alum Adjuvant or a Booster Dose on Immunogenicity during Clinical Trials of Group B Streptococcal Type III Conjugate Vaccines", INFECTION AND IMMUNITY, vol. 69, no. 11, 1 novembre 2001 (2001-11-01), pages 6696-6701, XP055208551, ISSN: 0819-9567, DOI: 10.1128/IAI.69.11.6696-6701.2001 *****</p> <p>*****</p>	36-39	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
1	Signature de la personne	7 septembre 2015	Scheffzyk, Iringard

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS

- X : particulièrement pertinent à lui seul
- Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
- A : article-pion technologique
- C : équivalent marchandise
- P : document précurseur

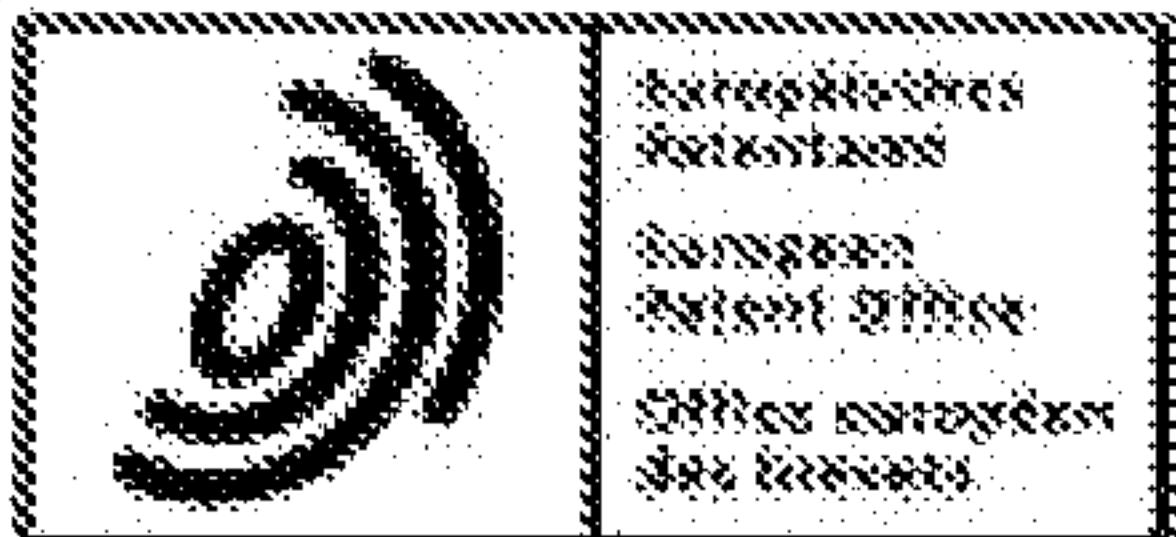
Y : basé ou prisposé à la base de l'invention

Z : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date

O : cité dans la demande

L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant

**RAPPORT DE RECHERCHE**

établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

BO 11108
BE 201505209

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Classification mentionnée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (IPC)
A	GIOVANNI GABUTTI ET AL: "Booster Vaccination: The Role of Reduced Antigen Content Vaccines as a Preschool Booster", BIOMED RESEARCH INTERNATIONAL, vol. 60, no. 1, 1 janvier 2014 (2014-01-01), pages 13-18, XP055192849, ISSN: 2314-6133, DOI: 10.4103/0974-777X.77298 * Le document en entier *	13-15	
*****			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)

1			
Signature de la demande		Signature	
7 septembre 2015		Scheffzyk, Iringard	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS <ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> particulièrement pertinent à lui seul <input checked="" type="checkbox"/> particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie <input checked="" type="checkbox"/> ordre prioritaire <input checked="" type="checkbox"/> dérogation mentionnée <input checked="" type="checkbox"/> document nécessaire <p>Y : bâti ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, misé publié à la date de dépôt ou après cette date O : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons A : membre de la même famille, document correspondant</p>			



OPINION ÉCRITE

Dossier n° BO11108	Date du dépôt (mentionnée) 02.04.2015	Date de priorité (mentionnée) 02.04.2014	Demande n° BE201505209
Classification internationale des brevets (CIB) INV. A61K39/002 A61K39/015 A61K39/29 A61K39/39			
Déposant GlaxoSmithKline Biologicals S.A.			

La présente opinion contient des indications et des pages correspondantes relatives aux points suivants :

- Cadre n° I Base de l'opinion
- Cadre n° II Priorité
- Cadre n° III Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- Cadre n° IV Absence d'unité de l'invention
- Cadre n° V Déclaration motivée quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- Cadre n° VI Certains documents cités
- Cadre n° VII Irégularités dans la demande
- Cadre n° VIII Observations relatives à la demande

Examinateur

Scheffzyk, Ingrid

OPINION ÉCRITE

Demande n°

SE201505209

Cadre n° I Base de l'opinion

1. Cette opinion a été établie sur la base des revendications déposées avant le commencement de la recherche.
 2. En ce qui concerne la ou les séquences de nucléotides ou d'acides aminés divulguées dans la demande, le cas échéant, cette opinion a été effectuée sur la base des éléments suivants :
 - a. Nature de l'élément:
 - un listage de la ou des séquences
 - un ou des tableaux relatifs au listage de la ou des séquences
 - b. Type de support:
 - sur papier
 - sous forme électronique
 - c. Moment du dépôt ou de la remise:
 - contenu(s) dans la demande telle que déposée
 - déposé(s) avec la demande, sous forme électronique
 - remis ultérieurement
 3. De plus, lorsque plus d'une version ou d'une copie d'un listage des séquences ou d'un ou plusieurs tableaux y relatifs a été déposée, les déclarations requises selon lesquelles les informations fournies ultérieurement ou au titre de copies supplémentaires sont identiques à celles initialement fournies et ne vont pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée initialement, selon le cas, ont été remises.
4. Commentaires complémentaires :

Cadre n° V Opinion motivée quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 10, 11, 30, 31, 34-35 Non : Revendications 1-6, 12-25, 32, 33
Activité inventive	Oui : Revendications Non : Revendications 1-30
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-29 Non : Revendications

2. Citations et explications

voir feuille séparée

Cadre n° VIII Observations relatives à la demande

voir feuille séparée

SECTION V

Ballou et al. (D1) (voir page 493, colonne à droite, troisième paragraphe) détruit la nouveauté des revendications 1-9,12-29,32 et 33.

Les revendications 10,11,30,31,34 et 35 manquent d'activité inventive car QS21 et 3D-MPL sont des composantes bien connues dans des préparations adjuvantes liposomales avec RTS,S (voir par exemple Mata et al., (D2)). L'omission de l'adjuvante dans la deuxième composition immunogène manque aussi l'activité inventive (voir p.e. Paoletti et al. (D3, page 6697, colonne à droite, troisième paragraphe)).

SECTION VIII

- 1). L'object revendiqué n'est pas techniquement soutenue sur l'ensemble du domaine revendiqué car l'exemple 1 donné dans la demande démontre seulement d'option relative à l' antigène commun réduit RTS,S et une réduction de l'adjuvant dans le deuxième immunogène composition d'une formulation liposomale.
- 2). Le terme "de l'une quelconque des revendications x-y" utilisée dans des revendications 27,29,31,33,35 rend imprécise l'étendue de ces revendications.