

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 654 042**

51 Int. Cl.:

A61K 39/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.07.2008 PCT/US2008/009032**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.02.2009 WO09017666**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.07.2008 E 08794740 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.09.2017 EP 2185189**

54 Título: **Composición de cápsula para su uso como inmunógeno frente a Campylobacter jejuni**

30 Prioridad:

27.07.2007 US 962313 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

12.02.2018

73 Titular/es:

**THE UNITED STATES OF AMERICA AS
REPRESENTED BY THE SECRETARY OF THE
NAVY (50.0%)
NAVAL MEDICAL RESEARCH CENTER 503
ROBERT GRANT AVE. CODE 00L
SILVER SPRING, MD 20910, US y
UNIVERSITY OF GUELPH (50.0%)**

72 Inventor/es:

**GUERRY-KOPECKO, PATRICIA y
MONTEIRO, MARIO, ARTUR**

74 Agente/Representante:

FERNÁNDEZ-VEGA FEIJOO, María Covadonga

ES 2 654 042 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición de cápsula para su uso como inmunógeno frente a *Campylobacter jejuni*

5 **Campo de la invención**

El contenido de la invención se refiere a una composición inmunogénica que puede conferir protección frente a la diarrea provocada por *Campylobacter jejuni* y a un método de inducción de una respuesta inmunitaria a dicha composición.

10

Antecedentes de la invención

C. jejuni es una causa principal de enfermedad diarreica a nivel mundial y una amenaza documentada para el personal del ejército estadounidense (Taylor, 1992; Tauxe, 1992). Los síntomas de la enteritis por *Campylobacter* incluyen diarrea, dolor abdominal y fiebre y a menudo está acompañada de vómitos. Las deposiciones contienen habitualmente mucosidad, leucocitos fecales y sangre, aunque también se observa diarrea líquida (Cover y Blaser 1999). Sin embargo, a pesar de la importancia de este organismo para la enfermedad humana, no existen vacunas autorizadas contra *C. jejuni*.

15

20

Debido a la importancia médica de *C. jejuni*, se dedica una investigación considerable a la comprensión del patógeno. Sin embargo, a pesar de este esfuerzo, sorprendentemente hay una escasa comprensión sobre cómo *C. jejuni* provoca la enfermedad humana.

25

Universidad de Vermont: "*Campylobacter jejuni* Challenge Model Development: Dose Ranging Study", 1 de marzo de 2007 describe respuestas inmunitarias humanas a la infección por *Campylobacter jejuni* de célula completa.

30

El genoma de una cepa, NCTC 11168 (Parkhill, *et al.*, 2000) reveló varios aspectos inusuales sobre la biología de *C. jejuni*. Una característica destacada es la presencia de un número inesperadamente alto de genes que codifican para supuestas enzimas implicadas en la síntesis de azúcares y/o polisacáridos (Parkhill *et al.*, 2000). La secuencia, y la investigación resultante fomentada principalmente por la disponibilidad de la secuencia, ha revelado que estos genes se clasifican en 4 agrupaciones funcionales principales que subrayan la importancia de algunas estructuras de hidratos de carbono inusuales para la biología de *C. jejuni*. Estas agrupaciones incluyen la síntesis de lipooligosacáridos (LOS), el control genético de la glicosilación de flagelina, el control genético de la glicosilación de unión a N y el control de la biosíntesis y el ensamblaje de cápsulas.

35

40

Las estrategias de vacuna contra *C. jejuni* han estado muy limitadas debido al mimetismo molecular entre núcleos de lipooligosacárido (LOS) de muchas cepas de *C. jejuni* y gangliósidos humanos (Moran, *et al.*, 1996). Se cree que este mimetismo es un factor importante en la fuerte asociación de la infección por *C. jejuni* con el síndrome de Guillain-Barré (SGB), una polineuropatía posinfecciosa (Allos, 1997). Por tanto, los anticuerpos generados contra núcleos de LOS dan como resultado una respuesta autoinmunitaria a tejido neural humano. Se ha estimado que hasta 1/3000 casos de enteritis por *Campylobacter* da como resultado SGB. Por tanto, la posibilidad de desarrollar SGB podría asociarse con cualquier de células completas contra *C. jejuni* que incluye mimetismo de gangliósidos.

45

La síntesis de LOS en *Campylobacter* está controlada por varios genes, incluyendo genes que codifican para enzimas implicadas en la biosíntesis de ácido siálico para la incorporación en LOS. Por tanto, *C. jejuni* es una bacteria de un número limitado de bacterias que pueden sintetizar ácido siálico de manera endógena, un azúcar de 9 carbonos que se encuentra en muchas células de mamífero. Esto concuerda con el mimetismo molecular observado de LOS y gangliósidos humanos importantes en SGB (Aspinall *et al.*, 1993, 1994 (a y b); Salloway *et al.*, 1996).

50

55

Aunque hace tiempo se consideraba que la glicosilación de proteínas era un rasgo eucariota, cada vez se conoce más sobre la glicosilación de proteínas procariotas (Power y Jennings, 2003). La proteína bacteriana mejor caracterizada y glicosilada de manera más extensa es la flagelina de *Campylobacter*. La flagelina de la cepa 81-176 se glicosila en los 19 sitios de serina o treonina mediante una unión en O a ácido pseudoamínico y derivados del ácido pseudoamínico (Thibault *et al.*, 2001). El ácido pseudoamínico es un azúcar de 9 carbonos inusual que se asemeja al ácido siálico, pero que es altamente inmunogénico, a diferencia del ácido siálico. Además, los mutantes que no pueden glicosilar la flagelina no se ensamblan en un filamento flagelar (Goon *et al.*, 2003). Puesto que los flagelos son determinantes de virulencia indispensables de *C. jejuni*, por tanto la glicosilación es también un determinante de virulencia clave.

60

65

Uno de los aspectos más inusuales de *C. jejuni* es la presencia de un sistema general para la glicosilación de unión a N de numerosas proteínas (Szymanski *et al.*, 1999; revisado en Szymanski *et al.*, 2003). Este sistema, que incluye una oligosacárido transferasa similar a la que se encuentra en el eucariota *Saccharomyces cerevisiae*, se une a un glicano que se ha mostrado recientemente que es un heptasacárido que se compone de un residuo de bacilosamina (un desoxi-azúcar inusual), uno de D-glucosa y cinco residuos de D-GalNAc (Young *et al.*, 2002). Parece producirse glicosilación en numerosas proteínas periplasmáticas, y quizás, expuestas en la superficie en *C. jejuni* (Young *et al.*,

2002). De nuevo, el glicano inusual parece ser altamente inmunogénico y se reconoce durante la infección en seres humanos (Szymanski *et al.*, 1999, 2003).

5 Una interesante revelación reciente referente a la secuencia del genoma de *Campylobacter* fue la presencia de un conjunto completo de genes de transporte capsulares similares a los observados en los loci capsulares de tipo II/III en *Enterobacteriaceae* (Parkhill *et al.*, 2000; Karlyshev *et al.*, 2000). Algunos estudios genéticos posteriores en los que se realizaron mutaciones específicas de sitio en varios genes de transporte capsulares indicaron que la cápsula será el serodeterminante del esquema de tipificación serológica de Penner (Karlyshev *et al.*, 2000; Bacon *et al.*, 2001). El esquema de Penner (o HS para termoestable, *heat stable*) es uno de los dos esquemas de tipificación serológica principales de *Campylobacter* y se creía originariamente que se basaba en cadenas laterales de lipopolisacárido O (Moran y Penner, 1999).

15 Actualmente se cree que todas las estructuras descritas previamente como cadenas laterales O son, de hecho, cápsulas. Se han determinado las estructuras químicas de las cápsulas/cadenas laterales O de varios serotipos de Penner, y estas estructuras incluyen varias estructuras de azúcares inusuales, tal como se resumen en la tabla 1. La cápsula de la cepa genómica, NCTC 11168, contiene una heptopiranososa como confórmero L-*gluco*, que es el primer informe de una estructura de este tipo en la naturaleza (St. Michael *et al.*, 2002). La cápsula de las cepas tipo HS23 y HS36 contiene los mismos hidratos de carbono en diferentes razones, e incluyen una mezcla de 4 *altro*-heptosas inusuales (6-desoxi- α -D-*altro*-heptosa, D-glicero- α -D-*altro*-heptosa, 6-desoxi-3-Me- α -D-*altro*-heptosa y 3-Me-D-glicero- α -D-*altro*-heptosa (Aspinall *et al.*, 1992).

Tabla 1. Estructura de algunos polisacáridos capsulares de cepas de *C. jejuni*.

Cepa	Estructura	Bibliografía
HS3	$\rightarrow 4\text{-}\alpha\text{-D-Gal-(1}\rightarrow 3\text{)}(3\text{-hidroxipropanoil)-L-glicero-}\alpha\text{-D-ido-Hep-(1}\rightarrow$	Aspinall <i>et al.</i> , 1995
HS19	$\rightarrow 4\text{-}\beta\text{-D-GlcA-(1}\rightarrow 3\text{)-}\beta\text{-D-GlcNAc-(1}\rightarrow$ (las unidades de GlcA están presentes como amidas de 2-amino-2-desoxiglicerol)	Aspinall <i>et al.</i> , 1994 a, b
HS23, HS36	Cuatro polisacáridos estrechamente relacionados: $\rightarrow 3\text{-}\beta\text{-D-GlcNAc-(1}\rightarrow 3\text{)-}\alpha\text{-D-Gal-(1}\rightarrow 2\text{)-6d-}\alpha\text{-D-altro-Hep-(1}\rightarrow;$ $\rightarrow 3\text{-}\beta\text{-D-GlcNAc-(1}\rightarrow 3\text{)-}\alpha\text{-D-Gal-(1}\rightarrow 2\text{)-6d-3-O-Me-}\alpha\text{-D-altro-Hep-(1}\rightarrow;$ $\rightarrow 3\text{-}\beta\text{-D-GlcNAc-(1}\rightarrow 3\text{)-}\alpha\text{-D-Gal-(1}\rightarrow 2\text{)-D-glicero-}\alpha\text{-D-altro-Hep-(1}\rightarrow;$ $\rightarrow 3\text{-}\beta\text{-D-GlcNAc-(1}\rightarrow 3\text{)-}\alpha\text{-D-Gal-(1}\rightarrow 2\text{)-3-O-Me-D-glicero-}\alpha\text{-D-altro-Hep-(1}\rightarrow;$	Aspinall <i>et al.</i> , 1992
81116	Dos polisacáridos a una razón de 3A : 1B, en los que <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p>OAc (30%)</p> <p>↓</p> <p>3</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>OAc (20%)</p> <p>↓</p> <p>6</p> </div> </div> <p>A = $\rightarrow 3\text{-}\beta\text{-D-Glc-(1}\rightarrow 2\text{)-}\alpha\text{-D-GlcA-(1}\rightarrow 3\text{)-}\alpha\text{-D-Man-(1}\rightarrow 3\text{)-}\alpha\text{-D-Glc-(1}\rightarrow$</p> <p>B = $\rightarrow 3\text{-}\beta\text{-D-GlcNAc-(1}\rightarrow 6\text{)-}\alpha\text{-D-Glc-(1}\rightarrow 4\text{)-}\alpha\text{-D-Gal-(1}\rightarrow$ <div style="display: flex; justify-content: center; align-items: center;"> <p style="margin-right: 5px;">3</p> <p>↑</p> <p>$\beta\text{-D-GlcNAc-(1}$</p> </div> </p>	Muldoon <i>et al.</i> (2002)
NCTC 11168	$6\text{-O-Me-D-L-}\alpha\text{-L-glc-Hepp-(1}$ <div style="display: flex; justify-content: center; align-items: center;"> <p style="margin-right: 5px;">↓</p> <p>$\rightarrow 2\text{-}\beta\text{-D-Ribf-(1}\rightarrow 5\text{)-}\beta\text{-D-GalNAc-(1}\rightarrow 4\text{)-}\alpha\text{-D-GlcpA6(NGro)-(1}\rightarrow$</p> </div> <p>(en este caso, el ácido glucurónico se amida con 2-amino-2-desoxiglicerol en C-6)</p>	St. Michael <i>et al.</i> (2002)

25 Existen varios ejemplos de vacunas capsulares altamente eficaces. *S. pneumoniae* tiene 83 tipos capsulares diferentes, pero la vacuna contra *S. pneumoniae* actual contiene una mezcla de los 23 serotipos más prevalentes en los EE.UU. y Europa. *N. meningitidis* tiene menos serogrupos, simplificando posiblemente por tanto el desarrollo de vacunas, y, de hecho, los serogrupos A, B y C son responsables de >90% de los casos de meningitis meningocócica (Jennings, 1990). Sin embargo, el polisacárido de serotipo B es escasamente inmunogénico en el hombre, probablemente porque imita a tejidos humanos. También se han desarrollado vacunas capsulares contra *H. influenzae* y *Streptococcus* del grupo B.

35 Tal como se mencionó previamente, actualmente no existen vacunas autorizadas contra *Campylobacter*, debido en gran medida al mimetismo molecular entre núcleos de LOS de muchas cepas de *C. jejuni* y gangliósidos humanos (Moran, *et al.*, 1996). Sin embargo, se han desarrollado formulaciones de vacuna que incorporan cápsulas bacterianas contra varios patógenos. En general, las vacunas capsulares son inmunogénicas en seres humanos y no tóxicas (Jennings, 1990). Uno de los problemas generales asociados con las vacunas capsulares es la escasa inmunogenicidad de todos los polisacáridos en bebés, y el hecho de que muchas de las vacunas capsulares están dirigidas a enfermedades que son particularmente amenazantes para la población pediátrica. Basándose en estudios murinos, se considera que los antígenos de polisacáridos puros son independientes de células T, y pueden

inducir sólo respuestas de tipo IgM. En cambio, los seres humanos adultos pueden generar anticuerpos IgG, además de IgM e IgA contra polisacáridos. Todas las respuestas en bebés a vacunas contra *H. influenzae* de tipo B (Schneerson *et al* 1980; Anderson, 1983; Marburg, 1986), *Neisseria meningitidis* del grupo A, B y C (Jennings y Lugowski, 1981 y 1983; y *Streptococcus pneumoniae* de tipo 6A (Chu *et al.*, 1983) han mejorado tras la conjugación con proteínas.

La cápsula de *C. jejuni*, tal como se define en esta solicitud, es un término genérico para polímeros capsulares, que se componen de estructuras de polisacárido de repetición. Las estructuras de repetición pueden ser homopolímeros, definidos como un único resto de azúcar de repetición, u oligosacáridos de repetición (es decir, disacáridos o trisacáridos, etc.). Se han identificado varias especies de polímeros de polisacárido de repetición capsulares. Para ilustrar el género de estructuras de polisacáridos capsulares, la tabla 2 enumera estructuras de polisacáridos capsulares conocidas para cepas de *Campylobacter*.

Tabla 2

Cepa/tipo de HS	Estructura	Bibliografía
HS3	→4-α-D-Gal-(1→3)(3-hidroxipropanoil)-L-glicero-α-D-ido-Hep-(1→	Aspinall <i>et al.</i> , 1995
HS19	→4)-β-D-GlcA-(1→3)-β-D-GlcNAc-(1→ (las unidades de GlcA están presentes como amidas de 2-amino-2-desoxiglicerol)	Aspinall <i>et al.</i> , 1994 (a y b)
HS23/36	Cuatro polisacáridos estrechamente relacionados: →3)-β-D-GlcNAc-(1→3)-α-D-Gal-(1→2)-6d-α-D-altro-Hep-(1→; →3)-β-D-GlcNAc-(1→3)-α-D-Gal-(1→2)-6d-3-O-Me-α-D-altro-Hep-(1→; →3)-β-D-GlcNAc-(1→3)-α-D-Gal-(1→2)-D-glicero-α-D-altro-Hep-(1→; →3)-β-D-GlcNAc-(1→3)-α-D-Gal-(1→2)-3-O-Me-glicero-α-D-altro-Hep-(1→;	Aspinall <i>et al.</i> , 1992
81116	Dos polisacáridos a una razón de 3A : 1B, en los que <div style="text-align: center;"> <p>A = →3)-β-D-Glc-(1→2)-α-D-GlcA-(1→3)-α-D-Man-(1→3)-α-D-Glc-(1→ B = →3)-β-D-GlcNAc-(1→6)-α-D-Glc-(1→4)-α-D-Gal-(1→ β-D-GlcNAc-(1</p> </div>	Muldoon <i>et al.</i> (2002)
NCTC 11168(HS2)	6-O-Me-D-L-α-L-glic-Hep-(1 ↓ →2)-β-D-Ribf-(1→5)-β-D-Gal/NAC-(1→4)-α-D-Glc(A6(Ngro))-(1→ (en este caso, el ácido glucurónico se amida con 2-amino-2-desoxiglicerol en C-6)	St. Michael <i>et al.</i> (2002)
HS41	Dos polisacáridos estrechamente relacionados: →2)-β-L-Araf-(1→2)-β-D-6d-altro-Hepf-(1→2)-β-L-6d-altrof-(1→ (75%; y →2)-β-L-Arf(1→2)-β-D-6d-altro-Hepf-(1→2)-α-D-Fucf(1→; (25%)	Hannify, <i>et al.</i> , 1999
HS30 (<i>C. coli</i>)	→5-Ribitol-1-P→ ↑ 6d-β-D-talo-Hep-(1→4)-β-D-GlcNAc-(1	Aspinall, <i>et al.</i> , 1993
HS1	→4)-β-D-Gal-(1→2)-(R)-Gro-(1-P→ (con dos ramificaciones en C-2 y C-3 de Gal de β-D fructofuranosas que están sustituidas además en C-3 con grupos fosforamidato de O-metilo	Aspinall 1998; McNally, <i>et al.</i> , 2005
HS 4	→3)-6-d-β-D-ido-Hep-(1→4)-β-D-GlcNac-(1→ Con unidades de fosforamidato de O-metilo presentes en cantidades no estequiométricas en las posiciones 0-2 y/o 0-7 de 6-desoxi-beta-D-ido-heptosa.	Chen, <i>et al.</i> 2008
81-176 (US23/36)	→3)-α-D-Gal-(1→2)-6d-3-O-Me-α-D-altro-Hep-(1→3)-β-D-GlcNAc-(1→ 2 [MeOP(O)N]‡	Kanipes, <i>et al.</i> , 2006

El documento WO 2007/038122 describe una composición inmunogénica que se compone de polímero de polisacárido capsular de *Campylobacter jejuni* con una estructura de disacárido de repetición →3)-α-6-desoxi-D-ido-heptosa (1→4)-β-D-GlcNAc(1→.

Sumario de la invención

En un aspecto, la invención proporciona una composición inmunogénica, que se compone de un polímero aislado, en la que dicho polímero contiene unidades de repetición de un disacárido que tiene la fórmula →4)]P→3]-alfa-D-Ga-(1→3)-[P→2/7]-6d-alfa-D-ido-Hep-(1→, en la que P es fosforamidato de O-metilo no estequiométrico.

En una realización, dicho disacárido de repetición se conjuga con una molécula transportadora.

En otra realización, dicho polímero aislado comprende además 3-hidroxipropanoilo.

En aún otra realización, dicho polímero aislado contiene 2-100 unidades de repetición de dicho disacárido.

En otro aspecto, la invención proporciona la composición descrita anteriormente para su uso en la prevención de infecciones por *Campylobacter jejuni*.

En algunas realizaciones, dicho polímero aislado se conjuga con una molécula transportadora.

En una realización preferida, la molécula transportadora es CRM₁₉₇.

En otra realización, dicha composición inmunogénica contiene 2-100 unidades de repetición dicho disacárido.

Descripción de los dibujos

Figura 1. Análisis de la composición de azúcares del polisacárido capsular de la cepa de *C. jejuni* BH01-0142 (denominada a continuación en el presente documento BH0142) que muestra que este polisacárido capsular se compone en parte de D-galactosa, 6-desoxi-D-ido-heptosa y L-glicero-D-ido-heptosa.

Figura 2. (A) Espectro de ¹H-RMN del polisacárido capsular de la cepa de *C. jejuni* BH0142 que muestra que este polisacárido capsular, y (B) espectro de ³¹P-RMN del polisacárido capsular de la cepa de *C. jejuni* BH0142 que muestra que este polisacárido capsular contiene varias unidades de fosforamido de O-metilo.

Figura 3. La estructura química de los bloques de repetición de disacárido que componen el polisacárido capsular de la cepa de *C. jejuni* BH0142.

Figura 4. Análisis de la composición de azúcares del polisacárido capsular activado (oxidado) de la cepa de *C. jejuni* BH0142 que muestra que el polisacárido capsular activado se compone en parte de idosa (con un aldehído en C-6), 6-desoxi-D-ido-heptosa y L-glicero-D-ido-heptosa.

Figura 5. (A) Esquema que muestra la conjugación del polisacárido capsular activado de la cepa de *C. jejuni* BH0142 con la proteína transportadora CRM₁₉₇, y (B) esquema que muestra la conjugación del polisacárido capsular activado de la cepa de *C. jejuni* CPS8486 con la proteína transportadora CRM₁₉₇. Podría oxidarse o bien una GlcNAc de extremos no reductores o bien una 6d-ido-Hep de extremos no reductores.

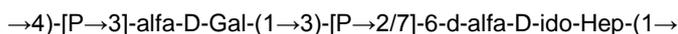
Descripción detallada de realizaciones preferidas

Los restos capsulares de *C. jejuni* son importantes en la determinación serológica. Sin embargo, a pesar de que se han identificado más de 60 serotipos de Penner, la mayor parte de la enfermedad diarreica por *Campylobacter* está provocada por *C. jejuni* de un número limitado de serotipos. Debido a la importancia de la estructura capsular en la determinación serológica, se postula que son estructuras altamente inmunogénicas. Adicionalmente, es poco probable que muestren la inducción autoinmunitaria no deseada provocada por el mimetismo inmunológico observado por lipooligosacáridos. Por tanto, serían sumamente útiles cápsulas o componentes capsulares en vacunas anti-*C. jejuni*. Las cápsulas de *C. jejuni* se componen de estructuras de polisacárido de repetición. Las estructuras de repetición pueden ser homopolímeros, definidos como un único resto de azúcar de repetición, u oligosacáridos de repetición tales como disacáridos o trisacáridos.

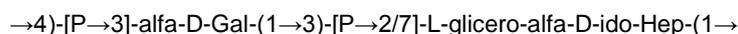
Se analizó la composición química de las cápsulas de *C. jejuni* en primer lugar haciendo crecer *C. jejuni* y luego aislando y purificando la cápsula usando extracción con agua-fenol, ultracentrifugación y cromatografía de permeación en gel. Se determinaron las estructuras de hidrato de carbono específicas mediante manipulaciones químicas en combinación con cromatografía gas-líquido (CGL), y CGL-espectrometría de masas, y bombardeo rápido de átomos-espectrometría de masas (FAB-MS). Se determinó la configuración anomérica de los azúcares mediante espectrometría de resonancia magnética nuclear (RMN).

Basándose en los análisis de hidratos de carbono mostrados en la figura 1, la cápsula de la cepa de *C. jejuni* BH0142 (un representante del complejo de serotipo H3) se componía de D-galactosa y 6-desoxi-D-ido-heptosa, y con cantidades menores de L-glicero-D-ido-heptosa. También se observó en este análisis 6-anhidro-L-glicero-D-ido-heptosa, un producto que surge de la ciclación de L-glicero-D-ido-heptosa durante la etapa 1 de hidrólisis. El análisis del tipo de uniones de azúcar mostró que las principales unidades de monosacárido presentes eran D-galactosa 4-sustituida y 6-desoxi-D-ido-heptosa3-sustituida, y también estaban presentes cantidades menores de L-glicero-D-ido-heptosa 3-sustituida. El espectro de ¹H-RMN reveló que todas las unidades contenían la configuración anomérica alfa (figura 2A). El espectro de ¹H-RMN (figura 2A), y un experimento de HSQC de ¹H-¹³C 2D también produjo resonancias a δ_H 2,71 y δ_C 37,20 características de un metileno no oxigenado de una unidad de 3-hidroxipropanoilo (7), lo que reveló la presencia de un resto 3-hidroxipropanoilo (CH₂OH-CH₂-CO-) en el polisacárido capsular de la cepa de *C. jejuni* BH0142. El polisacárido capsular también contiene en parte unidades

de fosforamidato de O-metilo en concentraciones variables (figura 2B). Los datos de análisis de uniones que muestran galactosa 3,4-disustituida, 6-desoxi-D-idoheptosa 2,3-disustituida, 6-desoxi-D-ido-heptosa 3,7-disustituida y L-glicero-D-ido-heptosa 2,3-disustituida, sugieren que las unidades de fosforamidato de O-metilo están presentes en la posición O-3 de galactosa, en las posiciones O-2 y/o O-7 de 6-desoxialfa-D-ido-heptosa, y en la posición O-3 de L-glicero-D-ido-heptosa. Además, los análisis de los tipos de unión muestran que el fosforamidato de O-metilo está presente principalmente en la posición O-3 de galactosa y en la posición O-2 de 6-desoxi-alfa-D-ido-heptosa. Colectivamente, los datos mostraron que el polisacárido capsular de la cepa de *C. jejuni* BH0142 (figura 3) se componía de una unidad de repetición de disacárido que se componía de alfa-D-galactosa 4-sustituida y 6-desoxialfa-D-ido-heptosa 3-sustituida. Algunas unidades de repetición de disacárido (aproximadamente el 20%) contenían L-glicero-alfa-D-ido-heptosa 3-sustituida en lugar de 6-desoxi-alfa-D-ido-heptosa 3-sustituida. Por tanto, la unidad de repetición de disacárido del polisacárido capsular de la cepa de *C. jejuni* BH0142 tiene la estructura general (figura 3):



o

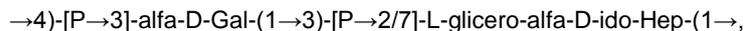


donde P representa fosforamidato de O-metilo y está presente en cantidades no estequiométricas. En algunos disacáridos, también puede estar presente 3-hidroxipropanoilo.

Por tanto, en el presente documento se describe una formulación inmunogénica que se compone de polisacárido capsular aislado que se compone de repeticiones de disacárido, teniendo cada disacárido la fórmula general:



o



donde P representa fosforamidato de O-metilo y está presente en cantidades no estequiométricas. Alternativamente la formulación puede componerse de un polisacárido capsular que contiene una mezcla de ambas estructuras de disacárido. Los análisis mediante MALDI-TOF-EM revelaron que el peso molecular promedio de BH0142 CPS analizado en este caso era de aproximadamente 8300 Da.

Ejemplo 1: La inmunidad frente a cápsulas puede aumentarse mediante conjugación con moléculas transportadoras

Puesto que la respuesta de IgO a menudo se observa de manera predominante como respuesta inmunitaria independiente de células T. Por tanto, normalmente los niños sólo pueden producir una respuesta de IgM frente a los antígenos de polisacárido, siendo capaces los adultos de generar una respuesta de IgG, IgA e IgM.

Con el fin de mejorar posiblemente de manera adicional la respuesta a restos capsulares, la inmunogenicidad de la cápsula de *C. jejuni* puede conjugarse con proteínas transportadoras dependientes de células T.

La conjugación del polisacárido capsular de la cepa de *C. jejuni* BH0142 con una proteína transportadora, tal como el material de reacción cruzada 197 (CRM₁₉₇), puede lograrse oxidando de manera selectiva el resto glicero exocíclico, con peryodato, de una o más unidades de L-glicero-D-ido-heptosa presentes en cada polisacárido capsular. El análisis (figura 4) del polisacárido capsular activado (oxidado) de la cepa de *C. jejuni* BH0142 reveló que, en efecto, podía oxidarse de manera selectiva L-glicero-D-ido-heptosa para dar una unidad de idosa que contenía un grupo aldehído en C-6, permaneciendo intacta la parte restante del polisacárido capsular. Este polisacárido capsular activado puede acoplarse directamente con una proteína transportadora (figura 5A) mediante un mecanismo de aminación reductora para producir un glicoconjugado que se compone del polisacárido capsular de la cepa de *C. jejuni* BH0142 y una proteína transportadora.

Se sintetizaron glicoconjugados CPS₈₄₈₆-CRM₁₉₇ mediante unión covalente de CG8486 CPS a CRM₁₉₇ mediante aminación reductora (figura 5B). La razón de CG8486 CPS con respecto a CRM₁₉₇ usada en este caso fue de 2:1 en peso. En este caso, se oxidó el monosacárido no reductor de CG8486 CPS mediante peryodato para producir funcionalidades aldehído en el extremo no reductor, lo que sirvió como punto de unión a CRM₁₉₇. El peryodato no oxidó las regiones internas ni el extremo reductor de estos CPS debido a la falta de hidroxilos vecinales disponibles, y los extremos reductores ocupados (por el anclaje lipídico). Por tanto, sólo se oxidó el extremo terminal no reductor y la integridad estructural de CG CPS permaneció intacta. CG8486 CPS oxidado se analizó mediante RMN, MALDI-TOF-EM y mediante CG-EM de los derivados de acetato de alditol. La caracterización de una unidad de tri-O-acetil-1-²H₁]glicerol en el CPS oxidado fue de particular interés, porque proporcionó evidencias de que se había producido la oxidación en el extremo no reductor. Los espectros de MALDI-TOF-EM del glicoconjugado produjeron iones de *m/z* anchos que, en promedio, oscilaron entre 70000 y 80000 Da para CPS₈₄₈₆-CRM₁₉₇, lo que implicó que cada

CRM₁₉₇ estaba portando en promedio hasta 5 CPS₈₄₈₆. También es posible que puedan estar presentes conjugados CPS₈₄₈₆-CRM₁₉₇ de mayor peso molecular que podrían no detectarse mediante MALDI-TOF-EM. También se observó una confirmación de que los glicoconjugados no contenían ninguna cantidad detectable de CPS libre o CRM₁₉₇ en los espectros de EM y/o electroforesis en gel, porque no se detectó ni CPS libre ni CRM₁₉₇ en los análisis mediante MALDI-TOF-EM o SDS-PAGE del glicoconjugado sintetizado en este caso.

Ejemplo 2: Inmunogenicidad de la vacuna de conjugado capsular de CG8486 (CPS₈₄₈₆-CRM₁₉₇)

Se inmunizaron ratones con 3 dosis de cualquiera de 1, 5 y 25 microgramos del conjugado capsular de CG8486 por vía subcutánea a intervalos de cuatro semanas. Se extrajeron muestras de sangre inmediatamente antes de cada vacunación y a las 4, 8, 12 y 14 semanas después de la tercera vacunación. Se determinaron los títulos de IgG de CPS₈₄₈₆ mediante ELISA. Los animales que recibieron PBS mostraron niveles iniciales de título de IgG específica de CPS₈₄₈₆ (título de punto final geométrico de $3,4 \pm 0,40$). En la tabla 2, se muestran los títulos de animales inmunizados. La inmunización con 1 µg de vacuna de conjugado capsular de CG8486 no pudo inducir IgG específica de CPS₈₄₈₆. En cambios, los animales inmunizados con 5 y 25 µg de vacuna tuvieron altos niveles similares de IgG sérica específica de antígeno después de dos dosis. La administración de la tercera dosis de 5 µg de vacuna potenció adicionalmente los niveles de IgG, pero la vacunación con la tercera dosis de 25 µg de vacuna no lo hizo. Los niveles máximos de los títulos de IgG en los grupos que recibieron 5 µg y 25 µg de la vacuna de conjugado capsular de CG8486 son significativamente mayores que los de aquellos que recibieron o bien 1 µg de la vacuna o bien PBS, pero no son significativamente diferentes entre sí. Después de completarse la serie de inmunización, $\geq 90\%$ de los animales cumplieron la definición de animal que responde en los grupos que recibieron las dos mayores dosis. Los niveles de IgG específica de CPS₈₄₈₆ permanecieron elevados durante al menos 14 semanas después de la tercera dosis.

Tabla 2: Cinética de la IgG sérica específica de CG8486 después de vacunación con CPS₈₄₈₆-CRM₁₉₇

Dosis de vacuna (µg)	Después de vacunación		Semana después de la vacunación 3			
	1	2	4	8	12	14
1	3,36 ± 0,44 (0)	3,57 ± 0,77 (10)	3,87 ± 1,29 (20)	3,98 ± 1,58 (20)	3,81 ± 1,18 (20)	3,54 ± 0,90 (10)
5	3,42 ± 0,64 (10)	6,42 ± 2,00 (50)	9,85 ± 1,08 (100)	9,65 ± 1,13 (100)	9,23 ± 0,78 (100)	7,55 ± 1,21 (100)
25	3,57 ± 0,75 (10)	8,34 ± 2,28 (80)	10,15 ± 1,50 (100)	9,13 ± 1,86 (90)	9,55 ± 2,03 (90)	8,85 ± 1,84 (100)

*Los animales que respondieron eran animales que mostraron un título de punto final de $\geq 1:100$ ($\log_e \geq 4,6$; equivalente a la media + 3 D.E. de receptores de PBS). Las dosis de 1 microgramo no cambian significativamente desde el nivel inicial en ningún momento ($p > 0,05$); para las dosis de 5 µg hubo un aumento significativo después de la dosis 2 ($p < 0,001$), que aumentó adicionalmente después de la dosis 3 ($p > 0,001$); para las dosis de 25 µg hubo un aumento significativo después de la dosis 2 ($p < 0,001$), que no aumentó después de la dosis 3 ($p < 0,05$). Para ambas dosis de 5 y 25 µg, los títulos permanecieron significativamente mayores tras la dosis 1 ($p < 0,001$). No se observó ninguna diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los niveles de IgG de las dosis de 5 y 25 µg en ningún momento.

Ejemplo 3: Eficacia protectora de CPS₈₄₈₆-CRM₁₉₇ en un modelo de ratón por vía intranasal de infección por C. jejuni.

Para determinar la capacidad de la vacuna de conjugado capsular de CG8486 para proteger frente a la exposición homóloga en el modelo de infección por vía intranasal en ratón (la figura 6), se expusieron animales inmunizados con 5 o 25 µg de la vacuna de conjugado capsular de CG8486 o PBS a intervalos de 4 semanas, por vía intranasal a la cepa de *C. jejuni* CG8486. Se calcularon los índices de enfermedad tal como se describe en las leyendas de las figuras. Los animales vacunados nunca alcanzaron el mismo nivel de intensidad de la enfermedad que el observado con animales de control. En los días 1 y 1,5 después de la exposición, los animales inmunizados con 25 µg mostraron un grado de enfermedad significativamente menor que los controles o los receptores de 5 µg ($p < 0,05$), aunque la intensidad de la enfermedad aumentó hasta el día 3. Tres días después de la exposición, los animales inmunizados con cualquier dosis de la vacuna mostraron índices de enfermedad significativamente menores que los de los controles ($p = 0,05$). El índice de enfermedad medio volvió a lo normal hacia el día 4,5 (25 mg) o 5,5 (5 mg). En cambio, el 50% de los animales de control permanecieron enfermos durante el periodo de observación de 6 días.

Ejemplo 4: Ejemplo profético de inducción de inmunidad frente a cápsulas en seres humanos usando el polisacárido capsular (CPS) de BH0142

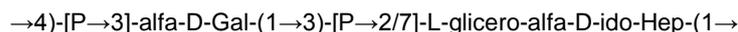
Un aspecto de esta invención es la capacidad de uno o más polímeros de disacárido aislados relacionados hallados en cápsulas de *C. jejuni* para inducir una respuesta inmunitaria vigorosa y eficaz en seres humanos pero no la

inducción del síndrome de Guillain-Barré contraindicado. Para cada formulación de vacuna que contiene cápsulas de una única cepa o de mezclas de cepas de *C. jejuni*, se requiere una cantidad limitada de experimentación para determinar intervalos de dosis eficaces óptimos. Sin embargo, un método profético para la inducción de inmunidad protectora contra la diarrea por *C. jejuni* tratada contiene las siguientes etapas:

a. la sensibilización es mediante la administración de una formulación inmunogénica que contiene polisacárido capsular de *C. jejuni* aislado que se compone de repeticiones de disacárido con la fórmula general



o



donde P representa fosforamidato de O-metilo no estequiométrico. Alternativamente, la formulación inmunogénica puede contener una mezcla de ambas estructuras de disacárido. En una realización preferida, los disacáridos aislados se conjugan con una molécula transportadora. La formulación inmunogénica puede administrarse por vía oral, por vía nasal, por vía subcutánea, por vía intradérmica, por vía transdérmica, por vía transcutánea, por vía intramuscular o por vía rectal. Dependiendo de la vía de administración, la formulación de vacuna puede administrarse con o sin cualquiera de varios adyuvantes, incluyendo pero sin limitarse a LTR 192G, hidróxido de aluminio, RC529E, QS21, E294, oligodesoxinucleótidos (ODN), oligodesoxinucleótidos que contienen CpG-, fosfato de aluminio, MPL[®] (GlaxoSmithKline, Middlesex, R.U.) o combinaciones de estos u otros posibles adyuvantes. El intervalo de una dosis unitaria de inmunógeno es de 0,1 µg a 10 mg de inmunógeno en una gama de disoluciones tampón.

b. De manera posterior a una dosis de sensibilización, también pueden administrarse de 1 a 4 dosis de refuerzo con un intervalo de dosis unitaria de 0,1 µg a 10 mg de inmunógeno en una disolución acuosa tamponada con o sin adyuvante.

Bibliografía

1. Allos, B. M. 1997. Association between Campylobacter infection and Guillain Barre Syndrome. J. Infect. Dis. 176(Suppl 2):S125-128.

2. Anderson, P. W. 1983. Antibody responses to Haemophilus influenzae type b and diphtheria toxin induced by conjugates of oligosaccharides of the type b capsule with the non toxic protein CRM197. Infect. Immun. 39:233-238.

3. Aspinall, G. O., S. Fujimoto, A. G. MacDonald, H. Pang, L.A. Kuryjanczyk y J. L. Penner. 1994a. Lipopolysaccharides from Campylobacter jejuni associated with Guillain Barre Syndrome patients mimic human gangliosides in structure. Infect. Immun. 62:2122-2125.

4. Aspinall, G. O., McDonald, A. G. y Pang, H. 1992. Structures of the O chain from lipopolysaccharides of Campylobacter jejuni serotypes O:23 and O:36. Carbohydr. Res. 231:13-20.

5. Aspinall, G. O., A. G. MacDonald, H. Pang, L. A. Kurjanczyk y J. L. Penner. 1994b. Lipopolysaccharides of Campylobacter jejuni serotype O:19: structures of core oligosaccharide regions from the serostrain and two bacterial isolates from patients with Guillain Barre Syndrome. Biochem. 33:241-249.

6. Aspinall, G. O., A. G. MacDonald, T. S. Raju, H. Pang, L. A. Kurjanczyk, J.L.Penner y A. P. Moran. 1993. Chemical structure of the core region of Campylobacter jejuni serotype O:2 lipopolysaccharide. Eur. J. Biochem. 213:1029-1037.

7. Aspinall, G. O., C. M. Lynch, H. Pang, R. T. Shaver, A. P. Moran. 1995. Chemical structures of the core region of Campylobacter jejuni O:3 lipopolysaccharide and an associated polysaccharide. Eur. J. Biochem. 231(3): 570-578.

8. Baqar, S., Bourgeois, A. L., Applebee, L A., Mourad, A. S., Kleinosky, M. T., Mohran, Z. y J. R. Murphy. 1996. Murine intranasal challenge model for the study of Campylobacter pathogenesis and immunity. Infect. Immun. 64:4933-4939.

9. Chu, C., Schneerson, R., Robbins, J. B. y Rastogi, S. C. 1983. Further studies on the immunogenicity of Haemophilus influenzae type b and pneumococcal type 6A polysaccharide-protein conjugates. Infect. Immun. 40:245-256.

10. Cover, T. L. y M. J. Blaser. 1999. The pathobiology of Campylobacter infections in humans. Ann. Rev. Med. 40:269-185.

11. Goon, S., J. F. Kelly, S. M. Logan, C. P. Ewing, P. Guerry. 2003. Pseudaminic acid, the major modification of *Campylobacter* flagellin, is synthesized via the Cj1293 gene. *Mol. Microbiol.* 50(2):659-671.
12. Hanniffy, O.M., A.S. Shashkov, A.P. Moran, M.M. Prendergast, S.N. Senchenkova, Y.A. Knirel y A.V. Savage. 1999. Chemical structure of a polysaccharide from *Campylobacter jejuni* 176.83 (serotype O:41) containing only furanose sugars. *Carbohydr. Res.* 319:124-132.
13. Jennings, H. J. Capsular polysaccharides as vaccine candidates. 1990. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 150:97-127.
14. Jennings, H. J. y Lugowski, C. 1981. Immunochemistry of groups A, B and C meningococcal polysaccharide tetanus toxoid conjugates. *J. Immunol.* 127:1011-1018.
15. Jennings, H. J., C. W. Lugowski, F. E. Ashton, J. A. Ryan. 1983. The structure of the capsular polysaccharide obtained from a new serogroup (L) of *Neisseria meningitidis*. *Carbohydr. Res.* 112(1):105-111.
16. Karlyshev, A. V., Linton, D., Gregson, N. A., Lastovica, A. J. y Wren, B. W. 2000. Genetic and biochemical evidence of a *Campylobacter jejuni* capsular polysaccharide that accounts for Penner serotype specificity. *Mol. Microbiol.* 35:529-541.
17. Marburg, S., Jorn, D., Tolman, R. L., Arison, B., McCauley, J., Kniskern, P. J., Hagopian, A. y Vella, P. P. 1986. Biomolecular chemistry of macromolecules: synthesis of bacterial polysaccharide conjugates with *Neisseria meningitidis* membrane protein. *J. Am. Chem. Soc.* 108:5282-5287.
18. McNally, D.J., H.C. Jarrell, J.Li, N.H. Khieu, E. Vinogradov, C.M. Szymanski y J.R. Brisson. 2005. The HS:1 serostrain of *Campylobacter jejuni* has a complex teichoic acid-like capsular polysaccharide with nonstoichiometric fructofuranose branches and O-methyl phosphoramidite groups. *FEBS J.* 272:4407-4422.
19. Moran, A. P., B. J. Appelmek y G. O. Aspinall. 1996. Molecular mimicry of host structures by lipopolysaccharides of *Campylobacter* and *Helicobacter* spp.: implications in pathogenesis. *J. Endotox. Res.* 3(6):521-531.
20. Moran, A. P. y J. L. Penner. 1999. Serotyping of *Campylobacter jejuni* based on heat-stable antigens: relevance, molecular basis and implications in pathogenesis. *J. Appl. Microbiol.* 86:361-377.
21. Muldoon, J., A. S. Shashkov, A. P. Moran, J. A. Ferris, S. N. Senchenkova y A. V. Savage. 2002. Structures of two polysaccharides of *Campylobacter jejuni* 81116. *Carbo. Res.* 337:2223-2229.
22. Parkhill, J., B. W. Wren, K. Mungall, J. M. Ketley, C. Churcher, D. Basham, T. Chillingworth, R. M. Davies, T. Feltwell, S. Holroyd, K. Jagels, A. V. Karlyshev, S. Moule, M. J. Pallen, C. W. Penn, M. A. Quail, M. A. Rajandream, K. M. Rutherford, A. H. M. van Vliet, S. Whitehead y B. G. Barrell. 2000. The genome sequence of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable tracts. *Nature* 403:665-668.
23. Power, P. M. y Jennings, M. P. 2003. The genetics of glycosylation in gram negative bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 218:211-222.
24. Russell, R.G., M.J. Blaser, J.I. Sarmiento y J. Fox. 1989. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in *Macaca nemestrina*. *Infect. Immun.* 57:1438-1444.
25. Russell, R.G., M. O'Donnoghue, D.C. Jr. Blake, J. Zulty y L.J. DeTolla. 1993. Early colonic damage and invasion of *Campylobacter jejuni* in experimentally challenged infant *Macaca mulatta*. *J. Infect. Dis.* 168:210-215.
26. Salloway, S., L. A. Mermel, M. Seamans, G. O. Aspinall, J. E. Nam Shin, L. A. Kurjanczyk y J. L. Penner. 1996. Miller Fisher Syndrome associated with *Campylobacter jejuni* bearing lipopolysaccharide molecules that mimic human ganglioside GD3. *Infect. Immun.* 64:2945-2949.
27. Schneerson, R., Barrera, O., Sutton, A. y Robbins, J. B. 1980. Preparation, characterization and immunogenicity of *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide protein conjugates. *J. Exp. Med.* 152:361-376.
28. St. Michael, F., C. M. Szymanski, J. Li, K. H. Chan, N. H. Khieu, S. Larocque, W. W. Wakarchuk, J.-R. Brisson y M. A. Monteiro. 2002. The structures of the lipooligosaccharide and capsule polysaccharide of *Campylobacter jejuni* genome sequenced strain NCTC 11168. *Eur. J. Biochem.* 269:5119-5136.
29. Szymanski, C.M., Yao, R., Ewing, C.P., Trust, T.J. y Guerry, P. 1999. Evidence for a system of general protein glycosylation in *Campylobacter jejuni*. *Mol Microbiol* 32:1022-1030.
30. Szymanski, C. M., Logan, S. M., Linton, D. y Wren, B. W. 2003. *Campylobacter*-a tale of two protein glycosylation

systems. Trends Microbiol. 11:233-238.

- 5 31. Tauxe, R. V. 1992. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. En *Campylobacter jejuni: Current status and future trends* (editado por Nachamkin I., Blaser M. J. y Tompkins L. S.), pág. 9. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 10 32. Taylor, D. N. 1992. *Campylobacter* infections in developing countries. En *Campylobacter jejuni: Current status and future trends* (editado por Nachamkin I., Blaser M. J. y Tompkins L. S.), pág. 20. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 15 33. Thibault, P., Logan, S. M., Kelly, J.F., Brisson, J.-R., Ewing, C. P., Trust, T. J. y Guerry, P. 2001. Identification of the carbohydrate moieties and glycosylation motifs in *Campylobacter jejuni* flagellin. *J Biol Chem* 276: 34862-34870.
- 20 34. Young, N. M., Brisson, J.-R., Kelly, J., Watson, D. C., Tessier, L., Lanthier, P. H., Jarrell, H. C., Cadotte, N., St. Michael, F., Aberg, E. y Szymanski, C. M. 2002. Structure of the N linked glycan present on multiple glycoproteins in the gram negative bacterium, *Campylobacter jejuni*. *J. Biol. Chem.* 277:42530-42539.
- 25 35. Aspinall, G. O. Lipopolysaccharide and associated carbohydrate polymers from *Campylobacter jejuni* and *Helicobacter pylori*. 1998. *Carbohydr. Eur.* 2 1: 24-29.
36. Chen, Y-H., Poly, F, Pakulski, Z., Guerry, P. y Monteiro, M. A. 2008. The chemical structure and genetic locus of *Campylobacter jejuni* CG8486 (serotype HS:4) capsular polysaccharide: The identification of 6-deoxy-Didoheptopyranose. *Carbohydr. Res.* 343: 1034-1040.
37. Baqar, S., A. L. Bourgeois, L. A. Applebee, A. S. Mourad, M. T. Kleinosky, Z. Mohran y J. R. Murphy. 1996. Murine intranasal challenge model for the study of *Campylobacter* pathogenesis and immunity. *Infect. Immun.* 64.:4933-4939.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición inmunogénica, que se compone de un polímero aislado, en la que dicho polímero contiene unidades de repetición de un disacárido que tiene la fórmula
- $$\rightarrow 4)\text{-[P}\rightarrow 3]\text{-}\alpha\text{-D-Gal-(1}\rightarrow 3)\text{-[P}\rightarrow 2/7]\text{-6d-}\alpha\text{-D-ido-Hep-(1}\rightarrow,$$
- en la que P es fosforamidoato de O-metilo no estequiométrico.
- 10 2. Composición inmunogénica según la reivindicación 1, caracterizada porque dicho disacárido de repetición se conjuga con una molécula transportadora.
3. Composición inmunogénica según la reivindicación 1, caracterizada porque dicho polímero aislado comprende además 3-hidroxiopropanoilo.
- 15 4. Composición inmunogénica según la reivindicación 1, caracterizada porque dicho polímero aislado contiene 2-100 unidades de repetición de dicho disacárido.
- 20 5. Composición inmunogénica según una de las reivindicaciones 1-4, para su uso en la prevención de infecciones por *Campylobacter jejuni*.
6. Composición inmunogénica para su uso según la reivindicación 5, caracterizada porque dicho polímero aislado se conjuga con una molécula transportadora.
- 25 7. Composición inmunogénica para su uso según la reivindicación 6, caracterizada porque la molécula transportadora es CRM₁₉₇.
8. Composición inmunogénica para su uso según la reivindicación 5, en la que dicha composición inmunogénica contiene 2-100 unidades de repetición de dicho disacárido.
- 30

FIG. 1

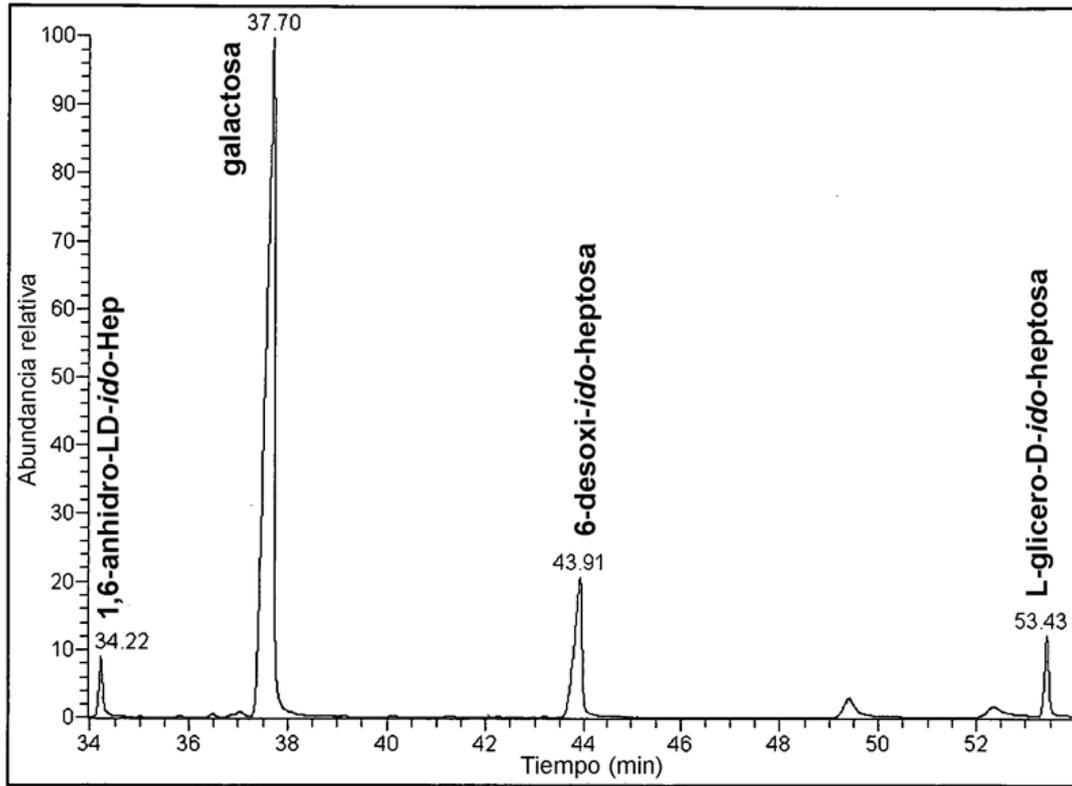
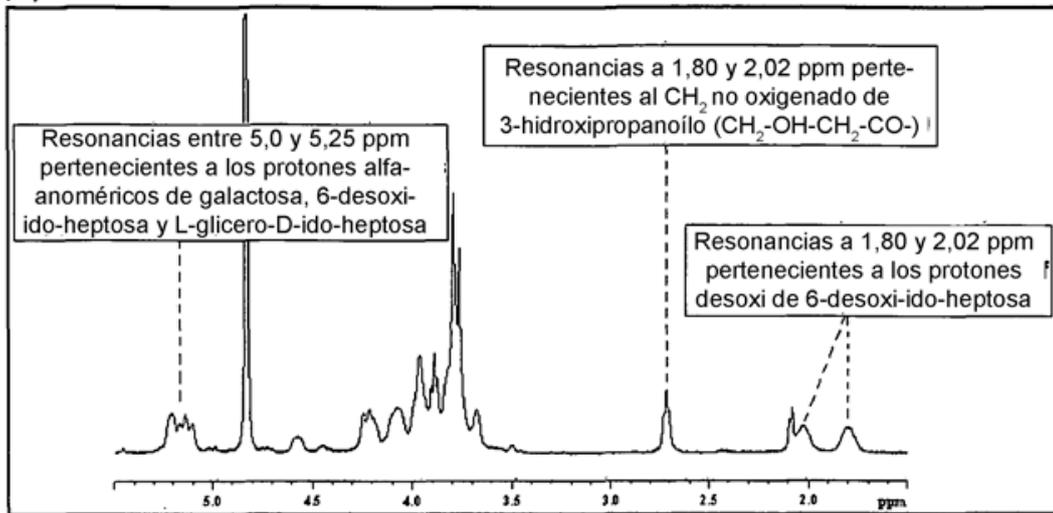


FIG 2

(A)



(B)

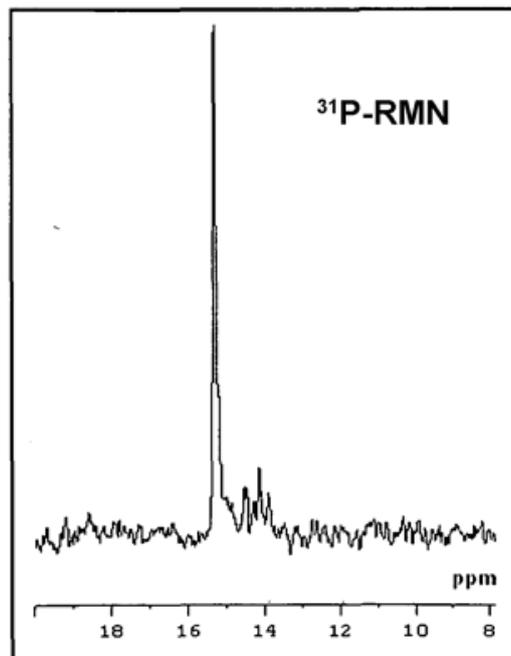


FIG. 3

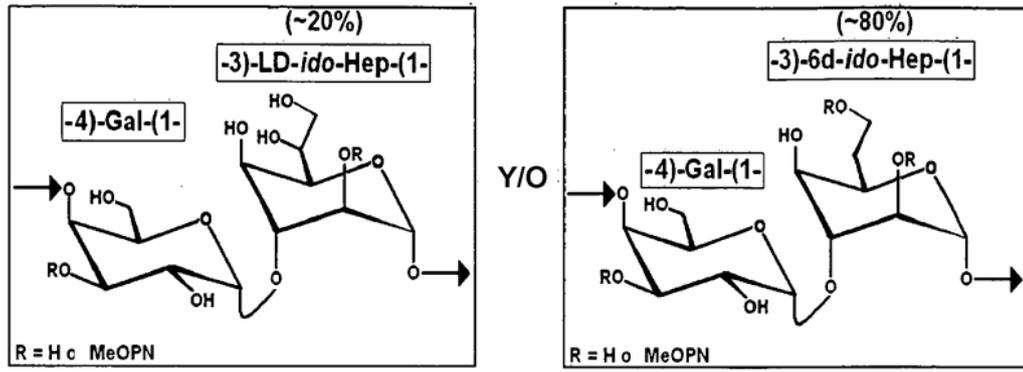


FIG. 4

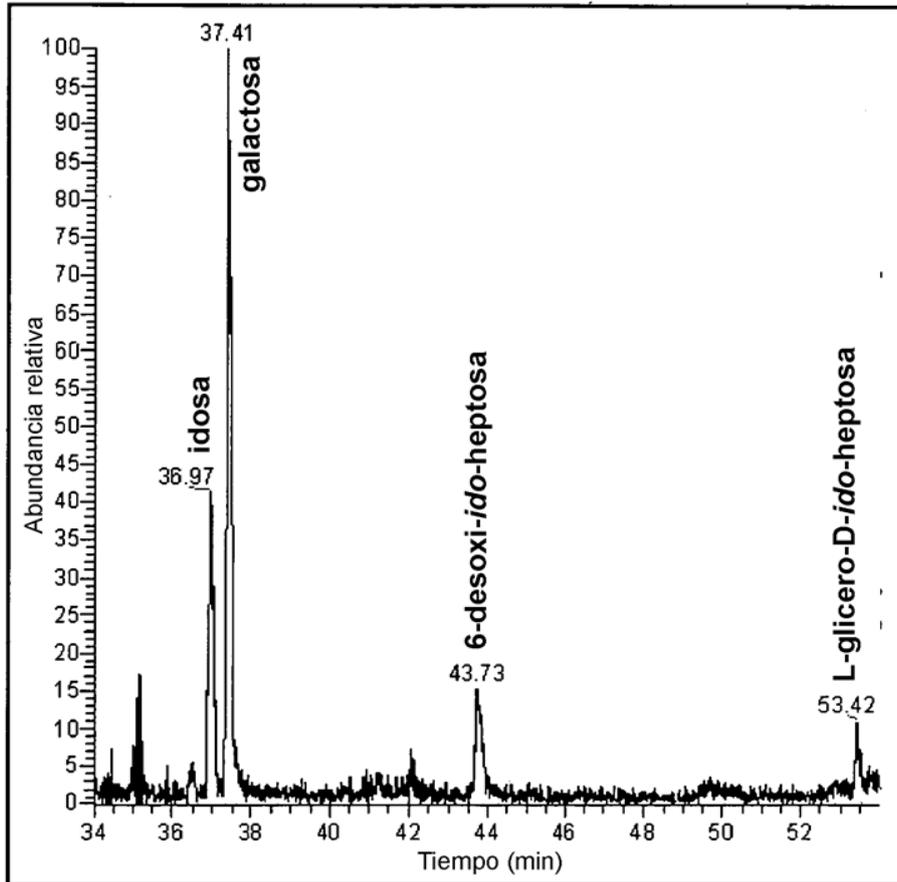
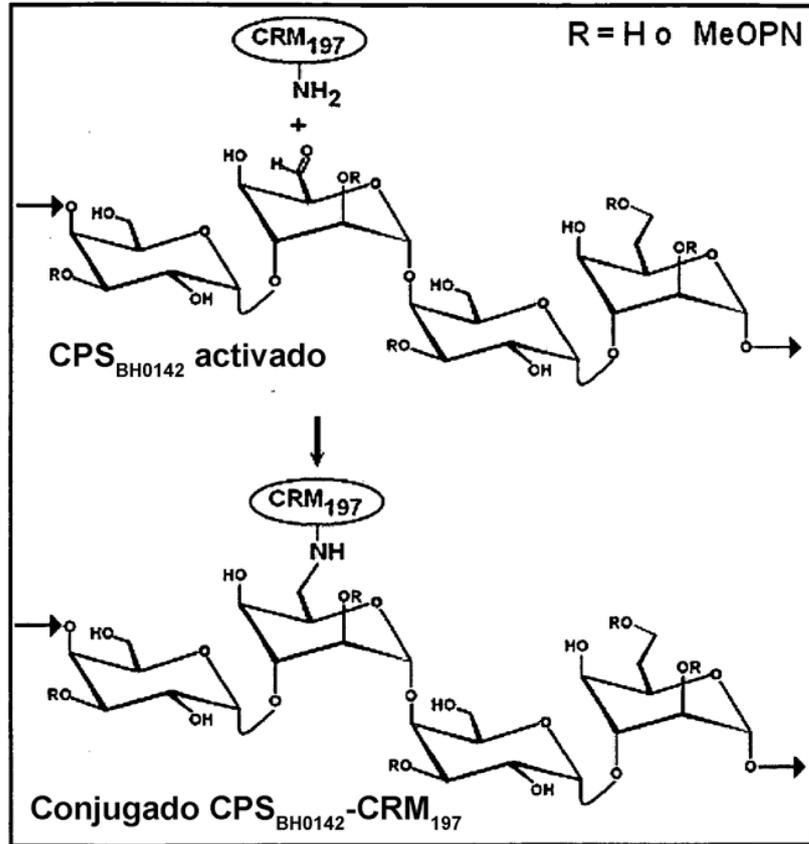
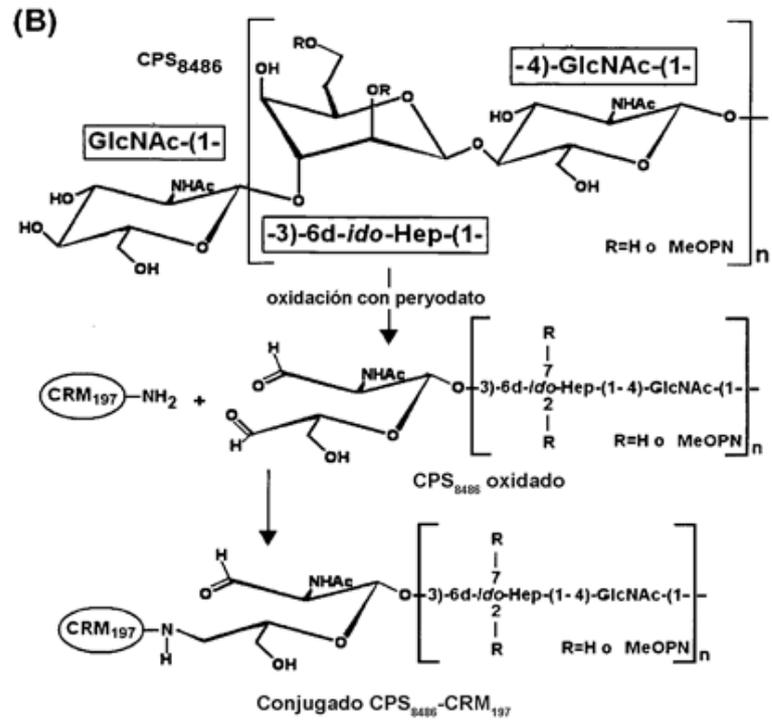


FIG. 5

(A)





Y/O

