(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 690 34 166 T2** 2005.08.04

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 747 058 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **690 34 166.0**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **96 112 324.7**
(96) Europäischer Anmeldetag: **26.04.1990**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **11.12.1996**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **22.09.2004**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **04.08.2005**

(51) Int Cl.[7]: **A61K 39/10**

(30) Unionspriorität:
8910570 08.05.1989 GB

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, IT, LI, LU, NL, SE

(73) Patentinhaber:
Medeva B.V., Amsterdam, NL

(72) Erfinder:
Novotny, Pavel, Bromley, Kent, BR2 0BT, GB

(74) Vertreter:
Rechts- und Patentanwälte Lorenz Seidler Gossel, 80538 München

(54) Bezeichnung: **Azellulärer Impfstoff**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Bordetella pertussis verursacht eine ernstliche und entkräftende Erkrankung bei Menschen, wobei Kinder besonders anfällig sind, welche in entwickelten Ländern durch groß angelegte Immunisierungsprogramme unter Kontrolle gehalten wird. Es ist festgestellt worden, dass die Immunisierung ein sehr wichtiger Faktor bei der Verminderung dieser Erkrankung ist und dass unterlassene Impfungen zu einem erhöhten Auftreten der Erkrankung führen. In praktisch allen Regionen wird die Immunisierung unter Verwendung eines Ganzkeim-B. pertussis-Impfstoffs bewirkt, der als relativ wirksam in der Verhütung der Krankheit befunden wurde. Allerdings haben in letzter Zeit Bedenken bezüglich der Nebenwirkungen dieser Impfstoffe zu einer verminderten Akzeptanz des Impfstoffs und einer Debatte über die Fortsetzung seiner Anwendung geführt.

[0002] Zu einigen der festgestellten Nebenwirkungen zählen Fieber, lokale Reaktionen und fortwährendes Schreien. Das Vorkommen von Fieber und fortwährendem Schreien wurde als bei 7 % der Patienten auftretend eingeschätzt (Wardlaw et al. Medical Microbiology Band 2, Immunisation against Bacterial Disease 1983).

[0003] Bei dem derzeit geringen Auftreten der Erkrankung in entwickelten Ländern mit Immunisierungsprogrammen ist das Nutzen/Risiko-Verhältnis ungünstig definiert, wobei viele Kliniker glauben, dass das Risiko der Impfung den durch die Immunisierung erzielten Nutzen übersteigt. Als Folge dessen sind viele Kinder nicht geimpft, weshalb nun ein Folgerisiko eines pandemischen oder Keuchhustens entstanden ist. Tatsächlich hat in den letzten Jahren das Auftreten von Keuchhusten und die daraus resultierende Erkrankungsrate bei Kindern mit abnehmender Anwendung des Ganzkeim-Impfstoffs zugenommen. Beträchtliche Forschungsanstrengungen wurden daher auf die Entwicklung verbesserter Partussis-Impfstoffe und insbesondere azelluläre Impfstoffe gerichtet, denen die mit den toxischen Wirkungen der Ganzkeim-Impfstoffe, die die Bedenken hervorgerufen haben, verbundenen Komponenten fehlen, wobei zugleich die zum Schutz gegen die Erkrankung erforderlichen Komponenten beibehalten bleiben.

[0004] Die Suche nach einem sichereren, wirksamen, azellulären B. pertussis-Impfstoff wurde in der Vergangenheit behindert durch die Knappheit der Information bezüglich der Identität und der Wirkmechanismen der pathogenen, toxischen und protektiven Anteile des in den Ganzkeim-Impfstoffen enthaltenen B. pertussis. Die Arbeit konzentrierte sich daher auf das Isolieren und Ausreinigen der 20 oder mehr Oberflächenantigene des B. pertussis-Organismus und das Charakterisieren ihrer Fähigkeit zum Induzieren von Immunantworten (siehe zum Beispiel J. Am. Med. Soc. 248 (1) 22–23). Beispiele der Antigene, die zur Untersuchung vorgeschlagen worden sind, umfassen den Lymphozytose-fördernden Faktor (Pertussis-Toxin/LPF), filamentöses Hämagglutinin (FHA), Lipopolysaccharid (LPS), Agglutinogene, dermonekrotisches Toxin (DNT), hitzelabile und hitzestabile Toxine, den polymorphonuklearen Leukozyteninhibitor-Faktor, Adenylatcyclase und weitere Oberflächenkomponenten. Zu weiteren vorgeschlagenen Kandidat-Antigenen für die Untersuchung zählen Trachea-Zytotoxin und verschiedene Außenmembranproteine.

[0005] Ein früher Impfstoffextrakt wurde entwickelt von L. Pillemer (Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1950) 75, 704–705), der auf zerbrochenen B. pertussis-Zellen basierte und als schutzbringend befunden wurde, der aber in Anbetracht der Toxizität des Präparats nicht kommerziell übernommen wurde.

[0006] Beispiele jüngerer B. pertussis-Impfstoffextrakte, die vorgeschlagen wurden, umfassen die in UK-Patentbeschreibung 2 083 358A (Takeda) beschriebenen Impfstoffe, die die Entfernung des Endotoxins aus Kulturüberständen einbeziehen; die französische Patentbeschreibung 2 047 886 (Institut Merieux), das die Extraktion einer mikrobiellen Suspension mit einem anionischen grenzflächenaktiven Mittel einbezieht; und die japanische Patentbeschreibung 58-222032 (Teijin), welche einen Impfstoff aus einer Protein-Untereinheit auf der Basis des Pertussis-Toxins (LPF) umfasst.

[0007] Ein Großteil der an azellulären Pertussis-Impfstoffen vorgenommenen Arbeit konzentriert sich auf die Möglichkeit, diesen Impfstoff auf der Basis von LPF herzustellen. Allerdings wird geglaubt, dass ein Teil der bisher beobachteten Nebenwirkungen in Verbindung mit der Pertussis-Impfung in Bezug zu dem Toxin steht. In Kombination mit Tetanus- oder Diphtherie-Toxoid und LPS ist es möglich, eine experimentelle Enzephalopathie bei anfälligen Mäusen zu induzieren (L. Steinman, et al. Nature (1982) 299, 738–740; Redhead et al. Workshop on B. pertussis. Nat. Inst. of Biol. Standards & Controls, Holy Hill, Hampstead, London, 1983). So glauben einige Kliniker, dass LPF möglicherweise für eine Hirnschädigung verantwortlich sein könnte, wenn derartige Komplikationen nach der Impfung auftreten sollten.

[0008] Nichtsdestotrotz haben bisherige Studien Daten erbracht, die zu der allgemeinen Annahme geführt haben, dass LPF ein wesentlicher Teil jeglichen azellulären Impfstoffs ist (Bacterial Vaccines, 1984, Kapitel 3,

Manclark et al., Herausgeber Germanier).

[0009] Ein neuer azellulärer Impfstoff, der derzeit in Japan erhältlich ist, wurde in Schweden in kontrollierten klinischen Studien getestet. Dieser Impfstoff enthält das Pertussis-Toxin (LPF) und FHA oder LPF allein (Lancet 1 995 1988). Allerdings hat sich dieser Impfstoff als nicht so wirksam wie der Ganzkeim-Impfstoff erwiesen, indem er lediglich etwa 69 Schutz bot.

[0010] Von der schwachen schützenden Wirkung abgesehen sind in der Impfgruppe auf Toxin-Basis drei Todesfälle aufgetreten, die möglicherweise mit dem Impfstoff in Verbindung stehen. Unter Erwägung all dieser Daten weigerte sich die Swedish Health Authority, diesen sogenannten "Japanischen Impfstoff" in Schweden zu genehmigen.

[0011] Diese klinische Studie stellt jedenfalls eine Illustration des Glaubens dar, dass LPF-Antigen ein wesentlicher Bestandteil des Impfstoffs ist, da vorgeschlagen wurde, dass Keuchhusten eine Toxin-vermittelte Erkrankung ist und dass der Schutz bei Mäusen im Pertussis-Mäuseschutztest einzig vom Vorhandensein eines aktiven LPF im Präparat abhängt (Pittman, M. 1984: The Concept of Pertussis as a Toxin-Mediated Disease, Pediatric Infection Disease. 3, 467–486). Es wird davon ausgegangen, dass diese Annahmen nicht richtig sind.

[0012] Bei filamentösem Hämagglutinin (FHA) handelt es sich um ein Protein mit einem Molekulargewicht von 107 – 130 kDa, das im Elektronenmikroskop als Fäden erscheint. Es stellt ein Hämagglutinin dar, das durch Cholesterol gehemmt wird.

[0013] Viele Forschungsgruppen haben vorgeschlagen, dass FHA ein wichtiges Immunogen und ein Impfstoffkandidat sein könnte. (Für einen Überblick, siehe Bacterial Vaccines 1984, Kapitel 3. Manclark et al., Herausgeber Germanier). Unsere Daten zeigen jedoch, dass FHA alleine lediglich einen minimalen Schutz bietet.

[0014] Das 69 kDa-Antigen von Pertussis ist ein Außenmembranprotein, das hitzestabil ist und mittels im Fachgebiet bekannter Methoden hergestellt werden kann (siehe EP 0162639). Die Verwendung von 69 kDa alleine ist nicht so wirksam wie der Ganzkeim-Impfstoff.

[0015] De Magistris et al. (J. Exp. Med. 168, 1351–1362 (1998)) berichtet das Ergebnis einer Studie zur Untersuchung der humoralen und zellulären Antworten bei Erwachsenen, die in ihrer Kindheit an Pertussis gelitten hatten. Es wurden T-Zell-Klone erhalten.

[0016] Der Erfinder der vorliegenden Erfindung hat festgestellt, dass ein 69 kDa/FHA-Impfstoff wirksamer ist als 69 kDa/LPF und zumindest ebenso, wenn nicht noch wirksamer, als der Ganzkeim-Impfstoff ist. Die Kombination aus 69 kDa und FHA ist vorteilhaft, da LPF nicht erforderlich und folglich die Wahrscheinlichkeit von Nebenwirkungen vermindert ist. Außerdem wird ein bivalenter Impfstoff, der lediglich 69 kDa und FHA enthält, eindeutig leichter und preiswerter herstellbar sein als ein trivalenter Impfstoff, der außerdem LPF enthält.

[0017] Davon abgesehen ist bei der geeigneten Kombination der Pertussis-Antigene eine gleichwertig wirksame Dosis der vorgeschlagenen Kombination bis zu 15-mal geringer als beispielsweise eine Kombination aus dem 69 kDa-Protein und LPF.

[0018] Daher wird gemäß der vorliegenden Erfindung ein azellulärer Impfstoff bereitgestellt, der das 69 kDa-Antigen von Bordetella pertussis, das filamentöse Hämagglutinin-Antigen von Bordetella pertussis, ein Adujvans und eine Kochsalzlösung enthält, wobei das 69 kDa-Antigen und das filamentöse Hämagglutinin-Antigen in einem Gewichtsverhältnis von zwischen 1:10 und 1:1 vorhanden sind und der Impfstoff zumindest ebenso wirksam ist wie der Britische Referenz-Ganzkeim-Impfstoff 66/74 im Kendrick-Test.

[0019] Das Verhältnis von 69 kDa-Antigen zu FHA beträgt vorzugsweise etwa 1:1.

[0020] Die Impfstoff-Formulierung umfasst ein Adjuvans zur Stimulierung der Immunantwort, um dadurch die Wirkung des Impfstoffs zu steigern. Zu bequem für die vorliegende Erfindung geeigneten Adjuvanzien zählen beispielsweise Aluminiumhydroxid und Aluminiumphosphat.

[0021] Die Impfstoff-Formulierungen werden geeignterweise so präsentiert, dass sie eine Endkonzentration des antigenen Proteins im Bereich von 0,01 bis 5 mg/ml, vorzugsweise 0,03 bis 2 mg/ml, am bevorzugtesten 0,3 mg/ml, enthalten. Nach der Formulierung kann der Impfstoff in einen sterilen Behälter eingebracht werden, der dann versiegelt und bei niedriger Temperatur, z.B. 4°C, gelagert werden kann, oder der gefriergetrocknet

werden kann.

[0022] Um die Immunität gegen Keuchhusten beim Menschen zu induzieren, können ein oder mehrere Dosen des geeignet formulierten Impfstoffs verabreicht werden. Es wird empfohlen, dass jede Dosis 0,1 bis 2 ml, bevorzugt 0,2 ml bis 1 ml, am bevorzugtesten 0,5 ml des Impfstoffs enthält.

[0023] Der Impfstoff kann bei einer Methode zum Induzieren einer Immunität gegen Keuchhusten beim Menschen verwendet werden. Die Impfstoffe gemäß der vorliegenden Erfindung können mittels einer geeigneten Methode zur Verabreichung von Impfstoffen, einschließlich oral und parenteral, verabreicht werden. Die Behandlung kann aus einer einzelnen Dosis oder einer Vielzahl von Dosen über einen gewissen Zeitraum hinweg bestehen. Die Erfindung umfasst die Verwendung des 69 kDa-Antigens von Bordetella pertussis, des filamentösen Hämagglutinin-Antigens von Bordetella pertussis, eines Adjuvans und einer Kochsalzlösung für die Herstellung eines azellulären Impfstoffs für die prophylaktische Behandlung eines für eine B. pertussis-Infektion anfälligen Säugers, wobei der Impfstoff das 69 kDa-Antigen und das filamentöse Hämagglutinin-Antigen in einem Gewichtsverhältnis von zwischen 1:10 und 1:1 enthält und mindestens so wirksam ist wie der Britische Referenz-Ganzkeim-Impfstoff 66/84 im Kendrick-Test.

Beispiel 1

Präparierung des filamentösen Hämagglutinins (FHA)

[0024] FHA kann mittels im Fachgebiet wohlbekannter Methoden hergestellt werden (siehe Araih und Munoz J. J. (1970), Infect. Immunology 25, 764–767; Ashworth et al. (1982) Infect. Immun. 37 1278–1281; Cowell et al. Bacterial Vaccines, S. 371–379 Seminars in Infectious Diseases, Band IV (1982); Sato et al. (1983) Infect. Immun. 41 313–320). Allerdings wurde das FHA im folgenden Verfahren gemäß des folgenden Protokolls hergestellt.

[0025] FHA-Reinigung: B. pertussis Tomaha oder BP357 (Tn5-Transposon-Mutante von AA. Weiss et al. (1983), die das LPF nicht sekretiert) oder W28ΔLPF, wie erhalten von R. Rappuloi, wurden in Stainer & Scholte-Medium (0,05 Tris) in 650 ml Costar-Kolben (jeweils 150 ml) 5 Tage lang bei 37°C (Sato et al., 1983, supra) gezüchtet. Vor der Zentrifugation (30 min bei 6000 × g) wurden 50 µM 1,10-Phenanthrolinmonohydrat als Proteolysehemmer den Kulturen zugegeben. Der auf pH 8,7 eingestellte zellfreie Überstand (unter Verwendung von 5 N NaOH) wurde auf eine 30 × 350 mm-Säule von kugelförmigem Hydroxylapatit (BHD) bei einer Fließgeschwindigkeit von 500 ml/Stunde aufgebracht. (Alle Vorgänge bei Raumtemperatur). Die Säule wurde dann in einem kalten Raum (+4°C) gewaschen, bis eine stabile Grundlinie erreicht war, bei einer Fließgeschwindigkeit von 50 ml/Stunde mit (a) 10 mM Phosphatpuffer, pH 8,0, (b) 100 mM Phosphatpuffer, pH 8,0, und schließlich (c) wurde das rückerhaltene Material mit 0,5 N NaCl in 100 mM Phosphatpuffer, pH 7,0, eluiert. Die Peak-Fraktionen aus agglutinierenden roten Gänseblutzellen (10 µl Volumina aus jeder Fraktion suspendiert in 50 µl PBS und einer gleichen Menge an gewaschenen 0,5 % Gänseblutzellen wurden zugegeben und für 1 bis 2 Stunden bei 37°C inkubiert) wurden gepoolt. Der Pool wurde über Nacht gegen 20 bis 30 Volumina an 0,025 M Bis-Tris/HCl-Puffer, pH 7,1, bei 4°C dialysiert. Das ausgefällte FHA wurde auf einer Zentrifuge gesammelt (20 min bei 8000 × g). Der nächste Schritt wurde von Cowell et al. (1983) vorgeschlagen, der festgestellt hatte, dass das FHA (als auch das LPF) in 40 mM Beta-Alaninpuffer, pH 3,5, löslich ist. Das ausgefällte FHA wurde im kleinstmöglichen Volumen eines β-Alaninpuffers angelöst (3,56 g β-Alanin und 0,35 g Ameisensäure pro Liter), die unlöslichen Substanzen mittels Zentrifugation entfernt und der klare Überstand auf eine Säule (25 × 800 mm) von Ultragel Aca 34 oder Aca 44 aufgebracht, äquilibriert und mit demselben Puffer zur Entfernung der Unreinheiten eluiert. Das rückerhaltene hämagglutinierende Material erschien in einem Peak, wie durch 0,05 M Tris/HCl-Puffer, enthaltend 0,5 N HaCl (pH 7,2) eluiert. Die Fraktionen aus dem Hauptpeak und mit Hämagglutin-artigen Eigenschaften wurden gepoolt und gefroren gehalten oder mittels Dialyse gegen 0,025 M Bis-Tris/HCl-Puffer, pH 7,1, nochmals ausgefällt und in einem kleineren Volumen β-Alaninpuffer gelöst. Die Löslichkeit beträgt etwa 3,0 mg FHA/ml. Das derart erhaltene Endprodukt, das entweder vom Tomaha-, BP357- oder W28-LPF-Stamm war, enthält keine nachweisbare Menge an LPF, wie mittels CHO-Zellassay (welcher bei einer Konzentration von 2 – 3 µg FHA pro einzelner Vertiefung, die 200 µl Gewebekultur enthielt, negativ war; Empfindlichkeit des Tests: 1 – 2 pg LPF pro Vertiefung ergibt eine positive Verklumpung) oder mittels Histamin-Sensibilisierung gemessen. Die N:NIH-S-Mäuse erhielten Injektionen mit Dosen von 50 µg FHA intraperitoneal und wurden 4 Tage später durch intraperitoneale Injektion mit 4 mg Histaminhydrochlorid provoziert. Keine von ihnen starb. Das gefrorene Material (bei –20 oder –40°C) bei saurem pH-Wert scheint stabil zu sein, wie aus seiner ELISA-Reaktivität und Aussehen im SDS-Page beurteilt: es bildet hauptsächlich drei starke Bande in der Region von 150 – 100 kD.

Beispiel 2

[0026] Das 69 kDa-Antigen wurde gemäß den in der veröffentlichten Europäischen Patentanmeldung Nr. 0162 639 skizzierten Verfahrensweisen unter Verwendung entweder des Stamms BP357 oder W28ΔLPF von B. pertussis präpariert und unter Verwendung des monoklonalen Antikörpers BB05 – hinterlegt beim Public Health Laboratory Service Centre for Applied Microbiology and Research, Porton Down, Salisbury Wiltshire SP4 OJG, United Kingdom, unter der Nummer 90020103 am 01. Februar 1990 – immungereinigt.

Beispiel 3

[0027] Kendrick-Test. Dieser wurde gemäß den W.H.O.-Anforderungen für Pertussis-Impfstoffe unter Verwendung von nicht-verwandt gezüchteten NIH-S-Mäusen (OLAC, Kategorie 3, frei von den meisten Pathogenen einschließlich B. bronchiseptica), mit einem Gewicht von 14 – 16 g vorgenommen. Die Antigene wurden, in 0,5 ml-Volumina, intraperitoneal als ein Gemisch geimpft, das sich aus einer Erstverdünnung und drei dreifachen Reihenverdünnungen zusammensetzte. Nach zwei Wochen wurden die Mäuse intrazerebral unter Verwendung des empfohlenen Provokationsstamms 18–323 (–400 LD_{50}) provoziert. Die Zahl der Überlebenden in jeder Gruppe wurde zur Berechnung der relativen Potenz bezüglich des Britischen Pertussis-Referenz-Impfstoffs 66/84 unter Verwendung eines Programms zur Parallel-Line-Probit-Analyse verwendet. Ein Vergleichstest wurde ebenfalls unter Verwendung eines 69 kDa/LPF-Impfstoffs vorgenommen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 gezeigt. Bei diesem Experiment stammt das 69 kDa-Protein und das FHA vom Stamm BP357.

TABELLE 1

69kd (µg)	FHA (µg)	ÜBERLEBENDE
20	20	13/16
6,7	6,7	12/16
2,2	2,2	8/16
0,74	0,74	8/16
69kd (µg)	LPF (ng)	
20	100	8/16
6,7	33	6/16
2,2	11	0/16
0,74	3,7	1/16
66/84	I.E.	
Ganzkeime UK	0,25	9/15
Referenz	0,08	9/16
Impfstoff	0,028	2/16
	0,009	1/16

[0028] Diese Daten wurden gemäß der Methodik der Parallel-Line-Probit-Analyse computerverarbeitet. Die Ergebnisse sind in **Fig. 1** gezeigt.

[0029] Die Ergebnisse zeigen eindeutig, dass der 69 kDa/FHA-Impfstoff potenter ist als 69 kDa/LPF und mindestens so potent ist, wenn nicht noch mehr, als der Ganzkeim-Impfstoff.

Beispiel 4

[0030] Kombinationen und/oder individuelle Antigene, die vom Stamm W28ΔLPF von Bordetella pertussis stammten, wurden in einem anderen Kendrick-Test verwendet. Da bei diesem Stamm das gesamte Toxin-Gen blockiert wurde, ist die Wahrscheinlichkeit, dass diese Präparate durch LPF kontaminiert wurden, gleich Null. Das/die Antigene) in 0,5 ml Volumina wurden einzeln oder als Gemische intraperitoneal geimpft und setzen sich aus einer Erstdosis und drei Vierfach-Verdünnungen zusammen. Nach zwei Wochen wurden die Mäuse intrazerebral unter Verwendung eines Provokationsstamms 18-323 (ca. 400 LD50) provoziert. Die Zahl der Überlebenden in jeder Gruppe wurde zur Berechnung der relativen Potenz bezüglich des Britischen Pertussis-Referenz-Impfstoffs 66/84 unter Verwendung eines Programms zur Parallel-Line-Probit-Analyse verwendet. Die Britische Referenz 66/84 wurde bei einer Erstverdünnung verwendet, die 0,5 I.E. enthielt, und drei

Vierfach-Reihenverdünnungen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 und Fig. 2 gezeigt.

TABELLE 2

69kDa (µg)	FHA (µg)	LPF (ng)	ÜBERLEBENDE/GESAMT
20,0	-	-	0/18
5,0	-	-	1/18
1,24	-	-	1/18
0,325	-	-	0/18
20,0	-	100,0	8/17
5,0	-	20,0	3/17
1,24	-	5,0	0/20
0,325	-	1,25	0/18
20,0	20,0	-	14/18
5,0	5,0	-	8/18
1,24	1,25	-	3/18
0,325	0,325	-	1/18
-	20,0	-	0/17
-	5,0	-	6/18
-	1,24	-	4/18
-	0,325	-	1,17
Ganzkeim-Referenz 66/84			
0,5 I.E.			16/17
0,125			13/18
0,031			8/17
0,008			0/18
Provokations-Titration:			
Provokationsdosis			0/11
" "	1/50		1/10
" "	1/250		2/10
" "	1/1250		6/9

Patentansprüche

1. Azellulärer Impfstoff, welcher das 69kDa-Antigen von Bordetella pertussis, das filamentöse Hämagglutinin-Antigen von Bordetella pertussis, ein Adjuvans und eine Kochsalzlösung umfasst, wobei das 69kDa-Antigen und das filamentöse Hämagglutinin-Antigen in einem Gewichtsverhältnis von 1:10 bis 1:1 vorliegen und der Impfstoff mindestens so potent ist wie der Britische Referenz-Ganzkeim-Impfstoff 66/84 im Kendrick-Test.

2. Impfstoff nach Anspruch 1, welchem das B. pertussis-Toxin fehlt.

3. Impfstoff nach Anspruch 1 oder 2, bei welchem das Verhältnis etwa 1:1 beträgt.

4. Impfstoff nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Konzentration an antigenem Protein im Bereich von 0,01 bis 5,0 mg/ml liegt.

5. Impfstoff nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Verwendung bei einer Methode zur Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers durch eine Therapie.

6. Impfstoff nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Verwendung bei einer Methode zur Induzierung einer Immunität gegen Keuchhusten beim Menschen.

7. Verwendung des 69kDa-Antigens von Bordetella pertussis, des filamentösen Hämagglutinin-Antigens von Bordetella pertussis, eines Adjuvans und einer Kochsalzlösung zur Herstellung eines azellulären Impfstoffes für die prophylaktische Behandlung eines für eine B. pertussis-Infektion empfänglichen Säugers, wobei der Impfstoff das 69kDa-Antigen und das filamentöse Hämagglutinin-Antigen in einem Gewichtsverhältnis von 1:10 bis 1:1 enthält und er mindestens so potent ist wie der Britische Referenz-Ganzkeim-Impfstoff 66/84 im Kendrick-Test.

8. Verwendung nach Anspruch 7, wobei dem Impfstoff das B. pertussis-Toxin fehlt.

9. Verwendung nach Anspruch 7 oder 8, wobei der Impfstoff das 69kDa-Antigen und das filamentöse Hämagglutinin-Antigen in einem Gewichtsverhältnis von etwa 1:1 enthält.

10. Verwendung nach Anspruch 7, 8 oder 9, wobei die Konzentration an antigenem Protein im Impfstoff im Bereich von 0,01 bis 5,0 mg/ml liegt.

11. Verfahren zur Herstellung eines azellulären Impfstoffes, welches Verfahren das Mischen des 69kDa-Antigens von Bordetella pertussis, des filamentösen Hämagglutinin-Antigens von Bordetella pertussis, eines Adjuvans und einer Kochsalzlösung in Mengen umfasst, so dass das 69kDa-Antigen und das filamentöse Hämagglutinin-Antigen in einem Gewichtsverhältnis von 1:10 bis 1:1 vorliegen, wobei der Impfstoff mindestens so potent ist wie der Britische Referenz-Ganzkeim-Impfstoff 66/84 im Kendrick-Test.

12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei dem Impfstoff das B. pertussis-Toxin fehlt.

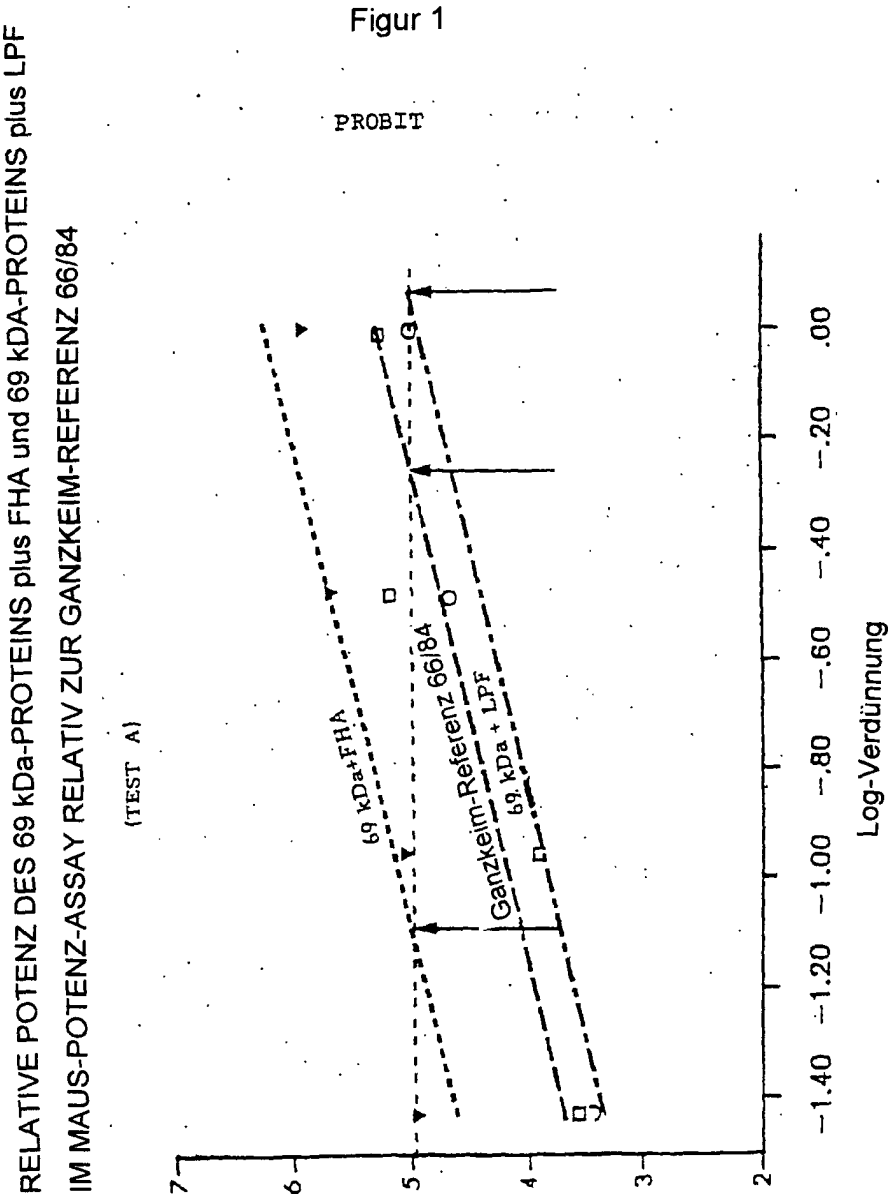
13. Verfahren nach Anspruch 11 oder 12, wobei das 69kDa-Antigen und das filamentöse Hämagglutinin-Antigen in einem Gewichtsverhältnis von etwa 1:1 vorgesehen sind.

14. Verfahren nach Anspruch 11, 12 oder 13, wobei das antigene Protein in einer Konzentration im Bereich von 0,01 bis 5,0 mg/ml bereitgestellt wird.

Es folgen 2 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Figur 1



Figur 2

RELATIVE POTENZ DES 69 kDa-PROTEINS plus FHA und 69 kDA-PROTEINS plus LPF IM MAUS-POTENZ-ASSAY RELATIV ZUR GANZKEIM-REFERENZ 66/84

