

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLUVÉHO
VLASTNICTVÍ

- (21) Číslo přihlášky: **2001-887**
(22) Přihlášeno: **08.09.1999**
(30) Právo přednosti: **11.09.1998 GB 9819898**
(40) Zveřejněno: **17.10.2001**
(Věstník č. 10/2001)
(47) Uděleno: **12.10.2011**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **23.11.2011**
(Věstník č. 47/2011)
(86) PCT číslo: **PCT/EP1999/006623**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2000/015255**

(11) Číslo dokumentu:

302 808

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

A61K 39/245 (2006.01)
A61K 39/118 (2006.01)
A61K 39/095 (2006.01)
A61K 39/005 (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01)
A61K 39/385 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)
A61P 31/22 (2006.01)
A61P 33/02 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

CZ 280 505; CZ 1997-3134; WO 95/17209; US 5 776 468.

Katz S.L.: Lancet 1997, 350, 1767-70; Apicella M.A. et al.: Current Opinion in Infectious Diseases 1996, 9 (1), str. 52-55; abstrakt.

(73) Majitel patentu:

SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S. A.,
Rixensart, BE

(72) Původce:

Slaoui Moncef Mohamed, Rixensart, BE
Vandepapeliere Pierre, Rixensart, BE

(74) Zástupce:

JUDr. Zdeňka Korejzová, Spálená 29, Praha 1, 11000

(54) Název vynálezu:

Vakcína proti sexuálně přenosným nemocem

(57) Anotace:

Použití glykoproteinu D HSV nebo zkráceného glykoproteinu D, kterým je gD2t, a adjuvans indukujícího TH-1 např. 3D-MPL a nosiče např. alum při přípravě vakcíny pro podávání jedinci ženského pohlaví s HSV1-/2- pro prevenci herpetického onemocnění pohlavních orgánů. Vakcína se podává intramuskulárně v režimu 0, 1 a 6 měsíců.

CZ 302808 B6

Vakcína proti sexuálně přenosným nemocem

Oblast techniky

5

Vynález se zabývá jedním nebo více antigeny používanými k prevenci sexuálně přenosných nemocí a jejich použitím v přípravě vakcíny k prevenci infekcí způsobených sexuálně přenosnými patogeny u jedinců ženského pohlaví. Vynález se zabývá také způsobem podávání vakcíny ženám k prevenci sexuálně přenosných nemocí.

10

Dosavadní stav techniky

Patogeny způsobující sexuálně přenosné onemocnění (STD) jsou všeobecně známy a existuje naléhavá potřeba vakcín k prevenci nemoci, které jsou těmito patogeny vyvolány.

15

Sexuálně přenosné nemoci jsou někdy způsobeny jedním nebo více patogeny. Potřebné jsou tedy také kombinované vakcíny, které předcházejí jedné nebo více STD.

20

Straus et al (Lancet 1994, 343: 1460 až 1463) popisuje placebem kontrolovaný experiment vakcinace rekombinantním glykoproteinem D viru herpes simplex typu 2 pro imunoterapii herpes genitalis.

25

Thoelen et al (Vaccine 1998, 16: 708 až 714) popisuje bezpečnost a imunogenicitu vakcíny proti hepatitidě B formulované s novým adjuvantním systémem.

30

Straus et al (Journal of Infectious Diseases 1997, 176: 1129 až 1134) popisuje imunoterapii recidivujícího herpes genitalis rekombinantními glykoproteiny D a B viru herpes simplex typ 2, a poskytuje výsledky placebem kontrolovaného vakcinačního experimentu.

30

WO 92/16 231 popisuje vakcínu obsahující glykoprotein D HSV nebo jeho imunologický fragment společně s 3-O-deacylovaným monofosforyllipidem A (3D-MPL) a vhodným nosičem.

35

US 5 776 468 popisuje vakcinační směsi obsahující malé částice 3D-MPL, včetně vakcíny obsahující glykoprotein D HSV nebo jeho imunologický fragment.

Podstata vynálezu

40

Předkládaný vynález poskytuje použití glykoproteinu D HSV nebo jeho imunologického fragmentu a adjuvans při přípravě vakcíny pro podávání jedinci ženského pohlaví s HSV/1-/2- pro prevenci herpetického onemocnění pohlavních orgánů.

45

Adjuvans je s výhodou adjuvans indukující TH-1.

Adjuvans vhodná pro použití podle vynálezu zahrnují ta, která jsou dobře známa v oboru. Adjuvantem indukujícím TH-1 (TH-1 inducing adjuvant) se rozumí adjuvans, které přednostně stimuluje imunitní odpověď TH1 buněk.

50

Signálem stimulace TH1 je zvýšená produkce cytokinů typu TH1, například IFN- γ a IL-2. Sekrece IFN- γ je spojena s ochrannými odpověďmi proti intracelulárním patogenům, včetně parazitů, bakterií a virů. Aktivace leukocytů prostřednictvím IFN- γ posiluje zabíjení intracelulárních patogenů a zvyšuje expresi Fc receptorů. Může se objevit také přímá cytotoxicita, zejména ve spojení s lymfotoxinem (produkovaným TH1 buňkami). IFN- γ je také jak induktorem, tak i produktem NK buněk, které jsou hlavními přirozenými vykonavateli ochrany. Odpovědi TH1

55

typu uskutečněné IFN- γ nebo jinými mechanismy, poskytují přednostní pomoc izotypům myších imunoglobulinů IgG2a.

5 Odpovědi typu TH-2 jsou naproti tomu spojeny s humorálními mechanismy a se sekrecí IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 a tumor nekrozujícího faktoru beta.

Adjuvans schopná přednostně stimulovat odpověď buněk TH1 jsou popsána v mezinárodních patentových přihláškách WO 94/00 153 a WO 95/17 209.

10 Jedním z těchto adjuvans je 3 De-O-acylovaného monofosforyllipid A (3D-MPL) popsáný v patentové přihlášce GB 2 220 211 (Ribi). Chemicky jde o směs 3 De-O-acylovaného monofosforyllipidu A se 4, 5 nebo 6 acylovanými řetězci vyráběnou firmou Ribi Immunochem Montana. V patentové přihlášce EP 0 689 454 B1 (SmithKline Beecham Biologicals SA) je popsána preferovaná „maločásticová forma“ 3 De-O-acylovaného monofosforyllipidu A.

15 „Maločásticová forma“ 3-DPML se vyznačuje tím, že částice 3D-MPL jsou tak malé, že mohou být sterilně přefiltrovány přes membránu s otvory o průměru 0,22 mikronů (popsáno v evropské patentové přihlášce EP 0 689 454).

20 Dalším výhodným adjuvans vhodným k použití podle vynálezu je QS21, netoxická frakce čištěná HPLC odvozená z kůry Quillaja Saponaria Molina. Volitelně se může míchat s 3 De-O-acylovaným monofosforyllipidem A (3D-MPL), popřípadě spolu s nosičem.

25 Způsob výroby QS21 je popsán (jako QS21) v patentu US 5 057 540 a je k dispozici u firmy Aquilla Pharmaceuticals.

Nereaktivní adjuvantní přípravky obsahující QS21 byly již popsány v patentové přihlášce WO 96/33 739. Bylo ukázáno, že takové přípravky obsahující QS21 a cholesterol při formulování s antigenem úspěšně stimulují TH1. Vakcíny, které obsahují kombinaci QS21 a cholesterolu, jsou tedy také součástí vynálezu.

30 Dalšími adjuvans, která přednostně stimulují odpověď TH1 buněk, zahrnují imunomodulační oligonukleotidy, například nemetylované CpG sekvence, nárokované v patentové přihlášce WO 96/02 555.

35 Jako adjuvans přednostně stimulující odpověď TH1 buněk mohou být použity také kombinace různých adjuvans stimulujících TH1, například kombinace látek zde v textu uvedených. Tak může být například QS21 formulován dohromady s 3D-MPL. Poměr QS21 : 3D-MPL se řádově pohybuje v rozmezí 1:10 až 10:1; s výhodou 1:5 až 5:1; často v podstatě 1:1. Optimální synergický účinek nastává v rozmezí 2,5:1 až 1:1 3D MPL:QS21.

45 Ve vakcíně podle vynálezu je s výhodou obsažen také nosič. Nosičem je emulze typu olej ve vodě nebo hlinitá sůl. Jako nosič mohou být také použity další minerální soli, jako jsou soli vápníku, železa nebo zinku. Mezi další nosiče patří polyfosfazen, liposomy a ISCOMS.

50 Netoxické emulze typu olej ve vodě obsahují s výhodou netoxický olej, např. skvalan nebo skvalen, a emulgátor, např. Tween 80, ve vodním nosiči. Vodním nosičem může být například roztok chloridu sodného pufrovaný fosfátem. Preferovaná emulze typu olej ve vodě obsahuje metabolizovaný olej, jako je skvalen, alfa tokoferol a Tween 80. Navíc může emulze typu olej ve vodě obsahovat span 85 a/nebo lecitin.

55 Ve vakcíně určené k podávání lidem se množství QS21 a 3D-MPL pohybuje v rozmezí 1 μ g až 500 μ g, jako 10 μ g až 100 μ g, s výhodou 10 μ g až 50 μ g v dávce. Emulze typu olej ve vodě typicky obsahuje 2 až 10 % skvalenu, 2 až 10 % alfa tokoferolu a 0,3 až 3 % Tweenu 80. Skvalen a alfa tokoferol jsou s výhodou v poměru, který je roven nebo menší než 1, protože při tomto

poměru je emulze stabilnější. Emulze může také obsahovat 1 % spanu 85. Někdy je výhodné, když vakcíny podle vynálezu obsahují navíc ještě stabilizátor.

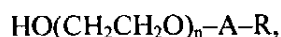
5 Zvláště silný adjuvantní prostředek skládající se z QS21, 3D-MPL a tokoferolu v emulzi typu olej ve vodě je popsán v patentové přihlášce WO 95/17 210.

Vakcína používaná a vyráběná podle vynálezu obsahuje s výhodou také hydroxid hlinitý (alum) nebo fosforečnan hlinitý.

10 Vakcína používaná a vyráběná podle vynálezu obsahuje ve zvláště výhodném provedení antigeny v kombinaci s 3D-MPL a hydroxidem hlinitým.

Vakcíny používaná podle vynálezu mohou, pokud je to požadováno, obsahovat adjuvantní molekuly obecného vzorce I:

15



kde n je číslo od 1 do 50, A je vazba nebo $-\text{C}(\text{O})-$, R je C_{1-50} alkylová skupina nebo fenyl- C_{1-50} alkyl.

20

Jedno z provedení vynálezu je vakcína obsahující polyoxyethylenether obecného vzorce I, kde n je číslo od 1 do 50, s výhodou od 4 do 24, nejlépe 9; složka R je C_{1-50} alkyl, s výhodou C_{4-20} alkyl, nejlépe C_{12} alkyl; a A je vazba. Koncentrace polyoxyethylenetherů se pohybuje v rozmezí 0,1 až 20 g/100 ml, s výhodou v rozmezí 0,1 až 10 g/100 ml, nejlépe v rozmezí 0,1 až 1 g/100 ml. Preferované polyoxyethylenethery patří do následující skupiny: polyoxyethylen-9-laurylether, polyoxyethylen-9-steroylether, polyoxyethylen-8-steroylether, polyoxyethylen-4-laurylether, polyoxyethylen-35-laurylether, polyoxyethylen-23-laurylether. Polyoxyethylenethery, jako je polyoxyethylenlaurylether, jsou popsány v manuálu Merck index (12. vydání, str. 7717).

30

Primárním původcem herpes genitalis je HSV-2. Původcem herpes labialis je HSV-1. Oba tyto viry jsou charakteristické tím, že vyvolávají akutní onemocnění a zároveň jsou příčinou latentní infekce, která perzistuje primárně v buňkách nervových ganglií.

35

V patentové přihlášce WO 92/16 231 je podrobněji popsán herpes genitalis a také vakcína určená pro léčbu lidí vnímavých k infekcím HSV. Tato vakcína obsahuje glykoprotein D z HSV nebo jeho imunologický fragment ve spojení s 3-O-deacylovaným monofosforyllipidem A a vhodným nosičem.

40

V patentové přihlášce WO 92/16 231 je detailně popsán glykoprotein D, jeho imunologické fragmenty a 3-DMPL, včetně způsobů jejich přípravy. V přihlášce jsou také popsány slibné zkoušky vakcíny na zvířecím modelu. Výsledky u lidí ale nejsou k dispozici.

Preferovaný aspekt vynálezu se týká prevence infekce HSV-2.

45

Vakcína, která může být použita podle vynálezu, obsahuje glykoprotein D nebo jeho imunologický fragment získaný typicky z HSV-2.

50

Glykoprotein D je umístěn na virové membráně a je přítomen také v cytoplazmě infikovaných buněk (Eisenberg R.J. a kol., J of Virology, 1980, 35, 428 až 435). Glykoprotein D obsahuje 393 aminokyselin, včetně signálního peptidu, a jeho molekulová hmotnost je přibližně 60 kD. Ze všech obalových glykoproteinů HSV je tento glykoprotein pravděpodobně popsán nejlépe (Cohen a kol., J. Virology, 60, 157 až 166). Je známo, že tento glykoprotein má hlavní úlohu v připojení viru k buněčným membránám in vivo. Glykoprotein D má navíc schopnost indukovat neutralizační protilátky in vivo (Eing a kol., J. Med. Virology, 127, 59 až 65). Navzdory vyso-

55

kým titrům neutralizačních protilátek v séru pacientů může být latentní virus HSV-2 reaktivován a dochází k návratu onemocnění.

5 Preferovaným provedením patentové přihlášky WO 92/16 231 je zkrácený glykoprotein D viru HSV-2 o 308 aminokyselinách, který obsahuje aminokyseliny 1 až 306 z přirozeně se vyskytujícího glykoproteinu a navíc obsahuje asparagin a glutamin na C konci zkráceného proteinu zbaveného jeho místa ukotvení v membráně. Tato forma proteinu obsahuje signální peptid, jehož odštěpením se získá zralý protein o 283 aminokyselinách. Produkce tohoto proteinu v ovariálních buňkách čínského křečka je popsána v patentové přihlášce EP-B 139 417.

10 Zralý zkrácený glykoprotein používaný ve vakcíně podle vynálezu může být navržený rekombinantní gD2t (rgD2t) nebo jednoduše gD2t (viz níže).

15 Antigen HSV může být chemicky nebo jinak navázán na částicový nosič tak, jak je popsáno v patentové přihlášce WO 92/16 231.

V jednom z preferovaných aspektů obsahuje vakcína k použití podle vynálezu gD2t, 3-DMPL (zejména 3-DMPL ve formě malých částic) a hydroxid hlinitý (alum).

20 Kombinované vakcíny podávané nebo připravené podle vynálezu obsahují imunoprotektivní množství antigenů. Tyto vakcíny se vyrábějí a podávají způsoby běžnými v oboru.

25 Výroba vakcín je obecně popsána v New Trends and Developments in Vaccines, Voller a kol., University Park Press, Baltimore, Maryland, U.S.A., 1978. zapouzdření do liposomů je popsáno například Fullertonem v patentu US 4 235 877. Konjugace proteinů do makromolekul je popsána například Likhitem v patentu US 4 372 945 a Armorem a spolupracovníky v patentu US 4 474 757.

30 Množství antigenu v každé dávce vakcíny je takové množství, které navodí u typických vakcín imunoprotektivní nebo léčebnou odpověď bez závažných vedlejších nežádoucích účinků. Toto množství se liší podle výběru konkrétního imunogenu. Obecně se očekává, že každá dávka bude obsahovat 1 až 1000 µg proteinu, s výhodou 2 až 100 µg proteinu, nejlépe 4 až 40 µg proteinu. Optimální množství antigenu v určité vakcíně se přesně stanoví na základě výsledků studií titrů protilátek a dalších odpovědí jedince. Po podání základní dávky je možné po čtyřech týdnech
35 podat dávku upomínací.

Množství antigenu v každé vakcinační dávce je množství, které navodí u typických vakcinovaných žen účinnou imunoprotektivní nebo léčebnou odpověď bez závažných nežádoucích vedlejších účinků.

40 Obecně každá dávka podle očekávání obsahuje 1 až 1000 µg antigenu, s výhodou 2 až 100 mg antigenu, nejlépe 4 až 40 µg antigenu. Adjuvans indukující TH-1, například 3-DMPL, bude ve vakcíně normálně obsaženo v množství 10 až 200 mg, s výhodou 25 až 75 µg, nejlépe v množství 50 µg v dávce.

45 Množství nosiče je ve vakcíně různé a může být zvoleno podle znalostí odborníka, který vakcínu připravuje. Pokud je nosičem hydroxid hlinitý (alum) nebo fosforečnan hlinitý, je ve vakcíně obsažen v množství 100 až 1000 µg, například 250 až 750 µg, s výhodou 500 µg v dávce.

50 Vakcína tedy typicky obsahuje antigen (20 µg), alum (500 µg) a adjuvans, zejména adjuvans indukující TH-1, jako je 3-DMPL (50 µg).

V jednom z preferovaných aspektů obsahuje vakcína k použití podle vynálezu gD2t, 3-DMPL (zejména 3-DMPL ve formě malých částic) a hydroxid hlinitý (alum).

Vakcína se podává nejlépe v intervalech 0, 1 a 6 měsíců. Je možné použít i jiné režimy, včetně upomínacích dávek. Vakcínu je možné podávat intramuskulárně.

5 Vakcína se může vyrábět způsobem, který je znám v oboru, například způsobem popsaným v patentové přihlášce WO 92/16 231. Tento způsob výroby typicky spočívá ve smíchání jednoho nebo více antigenů, které jsou odvozeny od původců STD (nebo které jsou s původci STD spojeny), s adjuvans, zejména s adjuvans indukujícím TH-1 a volitelně s nosičem, tak, jak je popsáno výše. Výsledný vakcinační prostředek se může používat pro podávání jedincům ženského pohlaví, zejména sexuálně aktivním jedincům ženského pohlaví ohroženým nebo nemocným STD, způsobem podle vynálezu.

15 Ženy, kterým se vakcína podává, jsou obecně ve věkovém rozmezí 12 až 70 let. Jde zejména o ženy adolescentní a ženy mladší 60 let, například v rozmezí 14 až 60, zvláště 18 až 45 let, tak, jak je popsáno ve studii níže. Vhodnou cílovou skupinou jsou v jednom aspektu ženy trpící nebo ohrožené herpetickou infekcí pohlavních orgánů. Použití podle vynálezu je možné aplikovat například u zdravých séronegativních partnerů žen s herpetickou infekcí pohlavních orgánů.

20 Vynález je předveden na následujících příkladech, není však omezen jen na tyto příklady. V příkladech jsou uvedeny výsledky podávání protitherpetické vakcíny jedincům ženského pohlaví. Podobných výsledků se dosahuje při podávání vakcíny proti dalším původcům STD, jako je HPV, nebo při podávání kombinovaných nebo polyvalentních vakcín proti více než jednomu původci STD, zejména kombinovaných vakcín obsahujících gD HSV-2 nebo jeho imunologické fragmenty, jako je výše popsáný gD2t.

25

Příklady provedení vynálezu

30 Příklad 1

Rozvržení studie

Zkoušená vakcína

35

Kandidát vakcíny obsahující Herpes simplex (20 µg gD2t), alum (500 µg) a 3-DMPL (50 µg), SmithKline Beecham Biologicals.

Název

40

Dvojitě slepá randomizovaná, placebem kontrolovaná studie k ověření účinnosti vakcíny Herpes simplex (gD2t) s 3-DMPL od firmy SmithKline Beecham Biologicals v prevenci herpetického onemocnění pohlavních orgánů u partnerů jedinců s herpetickou infekcí pohlavních orgánů.

45

Cílová skupina

Zdraví dospělí dobrovolníci mužského a ženského pohlaví ve věku od 18 do 45 let s negativními sérologickými markery infekce Herpes simplex (HSV-1 a HSV-2), jejichž partner má klinické známky herpetické infekce pohlavních orgánů.

Cíle studie

Primární

5

Ověřit protektivní účinnost gD–alum–3–DMPL vakcíny v prevenci klinického onemocnění herpetickou infekcí pohlavních orgánů v průběhu 17 měsíců od jednoho měsíce po podání druhé vakcinace ve srovnání s placebem.

10

Sekundární

Ověřit protektivní účinnost gD–alum–3–DMPL vakcíny v prevenci herpetické infekce pohlavních orgánů od jednoho měsíce po podání druhé vakcinace ve srovnání s placebem.

15

Ověřit protektivní účinnost gD–alum–3–DMPL vakcíny v prevenci herpetické infekce pohlavních orgánů po podání plné vakcinace ve srovnání s placebem.

20

Ověřit protektivní účinnost gD–alum–3–DMPL vakcíny v prevenci herpetické infekce pohlavních orgánů po podání plné vakcinace v průběhu rozšířeného období klinického sledování ve srovnání s placebem.

Ověřit protektivní účinnost gD–alum–3–DMPL vakcíny v prevenci herpetického onemocnění pohlavních orgánů po podání plné vakcinace ve srovnání s placebem.

25

Ověřit protektivní účinnost gD–alum–3–DMPL vakcíny v prevenci herpetického onemocnění pohlavních orgánů po podání plné vakcinace v průběhu prodlouženého období klinického sledování ve srovnání s placebem.

30

Zhodnotit dobu vzniku onemocnění ve všech skupinách od jednoho měsíce po podání druhé vakcinace.

Zhodnotit dobu vzniku infekce ve všech skupinách od jednoho měsíce po podání druhé vakcinace.

35

Zhodnotit počet typických a atypických případů herpetického onemocnění pohlavních orgánů v každé skupině.

Zhodnotit závažnost primárního onemocnění v obou skupinách.

40

Zhodnotit humorální a buněčnou imunitní odpověď na vakcínu (vyjma jedinců ze studií započatých po 1. červenci 1995).

Stanovit sérologické a imunologické koreláty protektivní účinnosti (vyjma jedinců ze studií započatých po 1. červenci 1995).

45

V případě primárního onemocnění nebo infekce zhodnotit počet jejich následných návratů v obou skupinách.

50

Zhodnotit bezpečnost a reaktogenicitu herpes simplex vakcíny (s 3–DMPL) od firmy SmithKline Beecham Biologicals u zdravých HSV séronegativních jedinců.

Zhodnotit počet herpetických onemocnění úst a rtu (ne pohlavních orgánů).

55

Ověřit protektivní účinnost gD–alum–3–DMPL vakcíny v prevenci suspektních známek a příznaků herpetického onemocnění pohlavních orgánů, které jsou spojeny buď se sérokonverzí na ne-

vakcinační antigeny stanovenou metodou western blotting, anebo s detekcí HSV DNA (metodou PCR) ve výtěrech z pohlavních orgánů, od jednoho měsíce po podání druhé vakcinace ve srovnání s placebem.

- 5 Zhodnotit incidenci herpetického onemocnění pohlavních orgánů a HSV infekce u vakcinovaných jedinců v průběhu prodlouženého klinického sledování.

Popis studie

- 10 Dvojitě slepá, randomizovaná, placebem kontrolovaná studie.

Vakcinační režim: 0–1–6 měsíců.

- 15 Počáteční období sledování – 17 měsíců od 1 měsíce po podání druhé vakcinace pro každého jedince.

Prodloužené období sledování – 24 měsíců pro každého jedince (od návštěvy v měsíci 19 do návštěvy v měsíci 43).

- 20 Fáze A (dvojitě slepá, příjemci vakcíny a placebo) – je ukončena, když poslední sledovaný jedinec dokončí počáteční období sledování (v tomto čase je studie odslepena kvůli analýze).

- 25 Fáze B (otevřená, pouze příjemci vakcíny) – začíná, když poslední sledovaný jedinec ukončí počáteční období sledování (měsíc 19) a je ukončena, když poslední sledovaný jedinec dokončí návštěvu v měsíci 43.

- 30 Vzhledem k tomu, že mezi datem, kdy poslední sledovaný jedinec dokončí počáteční období sledování, a datem, kdy je studie plně odslepena, může vzniknout období několika měsíců (vzhledem k času potřebnému k uložení a vyčištění všech dat získaných během počátečního období sledování a fáze A prodlouženého období sledování), začátek fáze B prodlouženého období sledování může zahrnovat jak příjemce vakcíny, tak příjemce placebo.

2 skupiny: I. gD–alum–3–DMPL
alum–3–DMPL jako placebo

- 35 Schematický popis studie HSV–007 – období studie: fáze vakcinace (V); počáteční období sledování* (počáteč. sled.); prodloužené období sledování fáze A; prodloužené období sledování fáze B.

- 40 * poznámka: modifikované „počáteční období sledování“ zahrnuje měsíce 2 až 19

počet jedinců do studie je zařazeno 800 párů, tak aby zahrnovala alespoň 640 hodnotitelných jedinců

- 45 primární cíle v průběhu období 17 měsíců od jednoho měsíce po podání druhé vakcinace (2 až 19) jsou cíle účinnosti následující:

50 prevence onemocnění srovnání dvou skupin jedinců s alespoň jedním shodným příznakem herpetického onemocnění pohlavních orgánů A buď současně s pozitivní kultivací, NEBO přítomností protilátek na nevakcinační antigeny stanovené metodou western blotting do šesti měsíců a pozitivní místní detekcí HSV DNA metodou polymerázové řetězcové reakce (PCR)

	klinický příznak	kultivace	protilátky na nevakcinační antigeny	PCR
onemocnění	+	+	+/-	NA
	+	-	+	+

NA: neaplikovatelné

5 sekundární cíle

1. prevence infekce:

10 srovnání (mezi skupinou, která dostává vakcínu a skupinou, která dostává placebo) se provede u jedinců s protilátkami na nevakcinační antigeny (sérokonzverze) a u jedinců nemocných (kultivační zkouška)

tento cíl se hodnotí v následujících obdobích:

15 počáteční období sledování (měsíce 2–19)

měsíce 7–19

fáze A prodlouženého období sledování

počáteční období sledování (měsíce 2–19) a fáze A prodlouženého období sledování (spojené)

20 měsíce 7–19 a fáze A prodlouženého období sledování (spojené)

Analýza dat z fáze A prodlouženého období sledování zahrnuje všechny události, které se objeví poté, co všichni jedinci vykonají návštěvu v měsíci 19 a skončí fáze A (poslední sledovaný jedinec dokončí návštěvu v měsíci 19).

25

Definice případu

		klinický příznak	kultivace	protilátky na nevakcinační antigeny	PCR
infekce	nemoc	+	+	+/-	NA
infekce	nemoc	+	-	+	+
infekce		+/-	NA	+	NA

30 NA: neaplikovatelný

2. prevence onemocnění v měsících 7 až 19

35 Srovnání jedinců s alespoň jedním shodným příznakem herpetického onemocnění pohlavních orgánů A buď se současnou pozitivní kultivací, NEBO přítomností protilátek na nevakcinační antigeny stanovenými metodou western blotting a pozitivní místní detekcí herpes

simplex DNA stanovenou metodou polymerázové řetězcové reakce (PCR) s placebem po podání plné vakcinace (měsíce 7–19).

3. prevence onemocnění v průběhu fáze A prodlouženého období sledování

5

Srovnání dvou skupin jedinců s alespoň jedním shodným příznakem herpetického onemocnění pohlavních orgánů A buď se současnou pozitivní kultivací, NEBO přítomnosti protilátek na nevakcinační antigeny stanovenými metodou western blotting a pozitivní místní detekcí herpes simplex DNA stanovenou metodou polymerázové řetězcové reakce (PCR) během fáze A prodlouženého období sledování.

10

Tento cíl bude navíc hodnocen v novém počátečním období sledování (měsíce 2–19) spojeném fází A prodlouženého období sledování a také v měsících 7–19 spojených s fází A prodlouženého období sledování.

15

4. Zhodnocení doby od vzniku herpetického onemocnění pohlavních orgánů v obou skupinách v průběhu 17 měsíců od jednoho měsíce po podání druhé vakcinace.

5. Zhodnocení doby vzniku herpetické infekce pohlavních orgánů ve všech skupinách v průběhu 17 měsíců od jednoho měsíce po podání druhé vakcinace.

20

6. Zhodnocení počtu případů typického a atypického klinického herpetického onemocnění pohlavních orgánů ve všech skupinách.

25

Definice případů jsou popsány v primárních cílech.

7. Zhodnocení subjektivních místních a celkových známek a příznaků HSV onemocnění pohlavních orgánů a jejich trvání u pacientů všech skupin.

30

8. Zhodnocení humorální (protilátky anti-gD2 stanovené metodou ELISA a neutralizační protilátky anti-HSV) a buněčné (lymfoproliferace, sekrece interferonu gama) odpovědi na vakcínu (vyjma jedinců ze studií započatých po 1. červenci 1995).

35

9. Při demonstraci klinické účinnosti se v sérech a lymfocytech periferní krve uskladněné při vyšetřování hodnotí velké množství sérologických a imunologických markerů ve snaze určit koreláty mezi protektivní účinností a laboratorními parametry (vyjma jedinců ze studií započatých po 1. červenci 1995).

40

10. V případě primárního onemocnění nebo infekce zhodnotit počet následných návratů herpetického onemocnění nebo infekce pohlavních orgánů ve všech skupinách.

45

11. Zhodnocení místní a celkové reaktogenicity a bezpečnosti po každé vakcinaci zaznamenáním místních a celkových známek a příznaků po každé dávce a zaznamenáním nežádoucích účinků během celé studie. Na začátku studie a po podání poslední vakcinace se kontrolují hematologické a biochemické parametry.

V průběhu prodlouženého období sledování se u příjemců vakcín zaznamenávají všechny závažné nežádoucí účinky.

50

12. Zhodnotit počet klinických případů herpetického onemocnění jiných než pohlavních orgánů, včetně herpetického onemocnění úst a rtu v obou skupinách.

55

13. Stanovit počet příjemců vakcín, u nichž se v průběhu 17 měsíců sledování od jednoho měsíce po podání druhé vakcinace vyskytly známky a příznaky herpetické infekce spojené buď se sérokonverzí na nevakcinační antigeny stanovené metodou western blotting (do šesti

měsíců od vzniku známek a příznaků herpetické infekce), nebo s detekcí HSV DNA stanovené metodou PCR ve výtěrech z pohlavních orgánů ve srovnání s placebem.

14. Počet příjemců vakcíny, kteří v průběhu fáze B prodlouženého období sledování vyvinuli protilátky na nevakcinační antigeny (sérokonzverze) a počet jedinců, u kterých se rozvinulo onemocnění (kultivační zkouška), se analyzuje ve vztahu k intervalu od podání poslední vakcinace. Tato data se použijí ke stanovení počtu atak herpetického onemocnění pohlavních orgánů a herpetické infekce.

Příklad 2

Analýza primárního cíle je založena na porovnání počtu atak mezi skupinou, která dostávala vakcínu a skupinou, která dostávala placebo, tak, jak je popsáno v RAP. Analýza sekundárních cílů je založena buď na porovnání počtu atak, nebo na porovnání doby vzniku onemocnění nebo infekce, tak, jak je popsáno níže.

Pomocí softwaru SAS se provádějí dvoustranné statistické testy, hladina je 0,05. Je třeba mít na zřeteli, že přestože je vypracováno mnoho statistických analýz, počet chyb (pro sekundární cíle není znám). Protože pro sekundární cíle není stanovena, měly by hodnoty p být interpretovány opatrně a měly by být vnímány pouze jako popisné.

Cílové skupiny, na nichž byla ověřována účinnost vakcíny

Analýza účinnosti vakcíny se provádí na dvou skupinách jedinců: skupina k léčení (intention-to-treat; ITT) a skupina podle protokolu (according-to-protocol; ATP). Skupina ATP je v textu označena také jako per-protokolová (per-protocol; PP).

Analýza skupiny podle protokolu je analýza primární. Skupina ATP (PP) je definována podle uvažovaného období studie:

- 1) V období mezi měsíci 2–19 se skupina ATP skládá z jedinců, kteří:

- splňují kritéria zařazení do protokolu
- dostali tři dávky vakcíny nebo placebo
- dostali dvě dávky vakcíny nebo placebo a došlo u nich ke vzniku onemocnění nebo infekce před návštěvou v měsíci 6
- neměli infekci nebo onemocnění před začátkem období měsíců 2–19

- 2) V období mezi měsíci 7–19 se skupina ATP skládá z jedinců, kteří

- splňují všechna kritéria pro zařazení do protokolu
- dostali tři dávky vakcíny nebo placebo
- neměli infekci nebo onemocnění před začátkem období měsíců 7–19

Analýza skupiny ITT je sekundární analýza. Jsou analyzováni všichni jedinci, kteří dostali alespoň jednu dávku studované vakcíny a měli alespoň jedno stanovení reakce na vakcínu.

Dvě analýzy se provádějí proto, aby se vyloučila porušení protokolu a ta vyřazení jedinců ze studie, která nesouvisí s léčbou a mohla by ve výsledcích vést k selektivnímu bias.

Skupiny jedinců zařazené do analýz imunogenicity a bezpečnosti jsou popsána v konečné zprávě ze studie.

Hodnocená období

5

Analýzy se provádějí v těchto hodnocených obdobích:

- měsíce 2–19 (skupina ATP)
- měsíce 7–19 (skupina ATP)
- 10 – měsíce 0–19 (skupina ITT)

Vybrané výsledky a souhrn všech závěrů studie jsou předvedeny níže.

15 tabulka 1a. Účinnost vakcíny na vznik herpetického onemocnění pohlavních orgánů skupiny ITT podle pohlaví

termíny použité v tomto modelu	odchylka	stupeň volnosti	hodnota p
léčebná skupina	320,5561	845	
léčebná skupina, pohlaví	317,2083	844	0,067
léčebná skupina, pohlaví a interakce	312,0443	843	0,023

20

tabulka 1b. Účinnost vakcíny na vznik herpetické infekce pohlavních orgánů u skupiny ITT podle pohlaví

termíny použité v tomto modelu	odchylka	stupeň volnosti	hodnota p
léčebná skupina	510,8654	845	
léčebná skupina, pohlaví	494,9266	844	<0,00
léčebná skupina, pohlaví a interakce	491,5551	843	0,066

25

Rozložení případů herpetického onemocnění pohlavních orgánů a HSV infekce podle léčebných skupin

tabulka 2a. Případy herpetického onemocnění pohlavních orgánů podle léčebných skupin – ženy a muži

období	skupina k léčení (ITT) n =847		skupina podle protokolu (PP)*	
	vakcína (425)	placebo (422)	vakcína	placebo
m 0-2	2	7		
m 2-7	9	8		
m 7-19	4	9	3 (349)	7 (349)
m 2-19	13	17	12 (371)	16 (369)
>m 19	1	0		
celkem	16	24		

5

* počet hodnotitelných jedinců ve skupině podle protokolu je pro každé období uveden v ()

10 tabulka 2b. Případy herpetického onemocnění pohlavních orgánů podle léčebných skupin – pouze muži

období	skupina k léčení (ITT) n = 579		skupina podle protokolu (PP)*	
	vakcína (288)	placebo (291)	vakcína	placebo
m 0-2	2	2		
m 2-7	6	5		
m 7-19	3	3	2 (240)	2 (247)
m 2-19	9	8	8 (252)	8 (261)
>m 19	1	0		
celkem	12	10		

15

* počet hodnotitelných jedinců ve skupině podle protokolu je pro každé období uveden v ()

tabulka 2c. Případy herpetického onemocnění pohlavních orgánů podle léčebných skupin – ženy

období	skupina k léčení (ITT) n = 268		skupina podle protokolu (PP)*	
	vakcína (137)	placebo (131)	vakcína	placebo
m 0-2	0	5		
m 2-7	3	3		
m 7-19	1	6	1 (109)	5 (102)
m 2-19	4	9	4 (119)	8 (108)
>m 19	0	0		
celkem	4	14		

5

* počet hodnotitelných jedinců ve skupině podle protokolu je pro každé období uveden v ()

tabulka 3a. Případy herpetické infekce pohlavních orgánů podle léčebných skupin – ženy a muži

10

období	skupina k léčení (ITT) n = 847		skupina podle protokolu (PP)*	
	vakcína (425)	placebo (422)	vakcína	placebo
m 0-2	2	10		
m 2-7	17	13		
m 7-19	11	10	10 (349)	10 (349)
m 2-19	28	30	26 (371)	29 (369)
>m 19	5	2		
celkem	35	41		

* počet hodnotitelných jedinců ve skupině podle protokolu je pro každé období uveden v ()

tabulka 3b. Případy herpetické infekce pohlavních orgánů podle léčebných skupin – muži

období	skupina k léčení (ITT) n = 579		skupina podle protokolu (PP)*	
	vakcína (288)	placebo (291)	vakcína	placebo
m 0-2	2	2		
m 2-7	9	8		
m 7-19	6	6	5 (240)	6 (247)
m 2-19	15	14	13 (252)	14 (261)
>m 19	3	0		
celkem	20	16		

5

* počet hodnotitelných jedinců ve skupině podle protokolu je pro každé období uveden v ()

10 tabulka 3c. Případy herpetické infekce pohlavních orgánů podle léčebných skupin – ženy

období	skupina k léčení (ITT) n = 268		skupina podle protokolu (PP)*	
	vakcína (137)	placebo (131)	vakcína	placebo
m 0-2	0	8		
m 2-7	8	5		
m 7-19	5	10	5 (109)	10 (102)
m 2-19	13	15	13 (119)	15 (108)
>m 19	2	2		
celkem	15	25		

* počet hodnotitelných jedinců ve skupině podle protokolu je pro každé období uveden v ()

Předběžná analýza účinnosti

primární cíl

V období 17 měsíců od jednoho měsíce po druhé vakcinaci (měsíce 2–19) je primární cíl následující:

prevence onemocnění:

srovnání dvou skupin jedinců s alespoň jedním shodným příznakem herpetického onemocnění pohlavních orgánů A buď se současnou pozitivní kultivací, NEBO přítomností protilátek na nevakcinační antigeny stanovenými metodou western blotting do šesti měsíců a pozitivní místní detekci herpes simplex DNA stanovenou metodou polymerázové řetězcové reakce (PCR)

tabulka 4a. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů – muži a ženy

období	skupina	účinnost (95% CI)
všechna	ITT	33,8 (-22,8; 64,3%)
m 2-19	PP	25,4% (-55,5; 64,2%)

tabulka 4b. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů – pouze muži

období	skupina	účinnost (95% CI)
všechna	ITT	-21,2 (-176,2; 46,8%)
m 2-19	PP	3,6% (-171,7; 60,5%)

tabulka 4c. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů – ženy

období	skupina	účinnost (95% CI)
všechna	ITT	72,7% (19,1; 90,8%)
m 2-19	PP	54,6% (-46,4; 85,9%)

sekundární cíle

1) prevence infekce

srovnání jedinců (ze skupiny, která dostávala vakcinu a ze skupiny, která dostávala placebo) s protilátkami na nevakcinační antigeny (sérokonzverze) a jedinců nemocných (kultivační zkouška) v počátečním období sledování (měsíce 2–19)

tabulka 5a. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů – muži a ženy

období	skupina	účinnost (95% CI)
všechna	ITT	15,2% (-30,4; 44,0%)
m 2-19	PP	10,8% (-48,4; 46,4%)

5

tabulka 5b. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů – muži

období	skupina	účinnost (95% CI)
všechna	ITT	-26,3% (-138,8; 33,2%)
m 2-19	PP	3,8% (-100,5; 53,9%)

10

tabulka 5c. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů – ženy

období	skupina	účinnost (95% CI)
všechna	ITT	42,6% (-3,9; 68,3%)
m 2-19	PP	21,3% (-57,7; 60,8%)

15

2) prevence infekce

srovnání jedinců (ze skupiny, která dostávala vakcínu a ze skupiny, která dostávala placebo) s protilátkami na nevakcinační antigeny (sérokonverze) a jedinců nemocných (kultivační zkouška) v měsících 7–19

20

tabulka 6a. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů – muži a ženy

období	skupina	účinnost (95% CI)
m 7-19	PP	37,5% (-35,8; 71,2%)

25

tabulka 6b. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů – muži

období	skupina	účinnost (95% CI)
m 7-19	PP	14,2% (-177,3; 73,5%)

tabulka 6c. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů – ženy

období	skupina	účinnost (95% CI)
m 7-19	PP	53,2% (-32,2; 83,4%)

5

2) prevence onemocnění v měsících 7–19

srovnání jedinců s alespoň jedním shodným příznakem herpetického onemocnění pohlavních orgánů A buď se současnou pozitivní kultivací, NEBO přítomností protilátek na nevakcinační antigeny stanovené metodou western blotting a pozitivní detekcí herpes simplex DNA metodou polymerázové řetězcové reakce (PCR) s placebem po plné vakcinaci (měsíce 7–19)

10

tabulka 7a. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů – muži a ženy

15

období	skupina	účinnost (95% CI)
m 7-19	PP	57,1% (-64,4; 88,8%)

tabulka 7b. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů – pouze muži

20

období	skupina	účinnost (95% CI)
m 7-19	PP	-2,9% (-624,7; 85,4%)

tabulka 7c. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů – ženy

25

období	skupina	účinnost (95% CI)
m 7-19	PP	81,3% (-57,5; 97,8%)

Zhodnotit dobu vzniku herpetického onemocnění pohlavních orgánů v obou skupinách v průběhu 17 měsíců od jednoho měsíce po druhé vakcinaci.

30

Doba vzniku herpetického onemocnění pohlavních orgánů ve skupině ITT je ukázána na obrázcích 1a (muži a ženy), 1b (muži) a 1c (ženy). Analýza účinnosti vakcíny na dobu vzniku herpetického onemocnění pohlavních orgánů ve skupině ITT je ukázána v tabulkách 8a (muži a ženy), 8b (muži) a 8c (ženy). Ve skupinách podle protokolu (PP) (měsíce 2–19) nebyla doba vzniku analyzována, protože u příjemců vakcíny a příjemců placeba je v přežívání bez onemocnění pozorován rozdíl již před měsícem 2.

35

Poznámka: do analýzy doby vzniku onemocnění nejsou zahrnuty případy herpetického onemocnění pohlavních orgánů po měsíci 19.

tabulka 8a. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů podle doby vzniku onemocnění – muži a ženy

období	skupina	hodnota p (Log Rank test)	účinnost (95%CI)
m 0-19	ITT	0,1432	37,96%
			(-18,27; 67,45%)

tabulka 8b. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů podle doby vzniku onemocnění – pouze muži

období	skupina	hodnota p (Log Rank test)	účinnost (95%CI)
m 0-19	ITT	0,8025	-11,54%
			(-162,55; 52,63%)

tabulka 8c. Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů podle doby vzniku onemocnění – pouze ženy

období	skupina	hodnota p (Log Rank test)	účinnost (95%CI)
m 0-19	ITT	0,013	73,24%
			(18,69; 91,19%)

Souhrn a závěry z detailní analýzy výsledků studie

Demografické charakteristiky a hodnocení rizikových faktorů

Z 847 jedinců zařazených do studie (425 příjemců vakcíny, 422 příjemců placeba) dokončilo studii (do měsíce 19) 697 jedinců (344 příjemců vakcíny a 353 příjemců placeba). Ze studie bylo vyřazeno 150 jedinců; nikdo nebyl vyřazen kvůli závažným nežádoucím účinkům.

V měsících 2–19 bylo ve skupině ATP hodnotitelných 370 jedinců, kteří dostávali vakcínu a 369 jedinců, kteří dostávali placebo. Skupiny byly z hlediska demografických charakteristik vyváženy a výběrem jedinců pro analýzu skupiny ATP nedošlo k bias.

Mezi stanovované rizikové faktory, které mohly mít vliv na počet získaných herpetických onemocnění nebo infekcí pohlavních orgánů, patří délka partnerského vztahu před zahájením studie, průměrná doba do rozchodu s nakaženým partnerem, frekvence pohlavního styku (na

začátku a v průběhu období sledování účinnosti vakcíny) a frekvence používání kondomu (na začátku a v průběhu období sledování účinnosti vakcíny).

Z výsledků vyplynulo, že skupina příjemců vakcíny a skupina příjemců placeba byly z hlediska všech rizikových faktorů na začátku studie vyvážené a že tato vyváženost byla během studie udržována. Profil rizikových faktorů skupiny ITT odpovídal profilu rizikových faktorů ATP, takže vyřazení jedinců neodpovídajících protokolu nevedlo k bias.

Subanalýza z hlediska pohlaví ukázala, že v každé skupině podle pohlaví byly rizikové faktory, které mohly mít vliv na počet získaných herpetických onemocnění nebo infekci pohlavních orgánů, vyvážené.

Analýza primárního cíle účinnosti

Při analýze primárního cíle se účinnost vakcíny proti herpesu pohlavních orgánů v kombinované (muži a ženy) skupině zdravých séronegativních partnerů jedinců s herpetickým onemocněním pohlavních orgánů neprojevila.

Výsledky analýzy primárního cíle účinnosti lze shrnout takto:

- 1) Relativní účinnost vakcíny v celé skupině (měsíce 2–19 ATP) je 25,4 % (95% CI: -55,5; 64,2; $p = 0,449$). Relativní účinnost vakcíny ve skupině ITT je 37,9 % (95% CI: -16,6; 67,0; $p = 0,143$).
- 2) Na analýzu účinnosti ve skupině ITT mělo statisticky významný vliv pohlaví ($p = 0,03$).
- 3) Při oddělené analýze podle pohlaví je účinnost vakcíny v měsících 2–19 u žen ve skupině ATP 54,2 % (95% CI: -47,7; 85,8; $p = 0,238$) a u žen ve skupině ITT je účinnost vakcíny 72,7 % statisticky významná (95% CI: 19,1; 90,8; $p = 0,014$). Ve skupině mužů není vakcína účinná. V měsících 2–19 je účinnost vakcíny u mužů ve skupině ATP 3,6 % (95% CI: -171; 60,5) a u mužů ve skupině ITT je účinnost vakcíny -11,1 % (95% CI: -157,6; 52,1).

Bylo zjišťováno, zda na účinnost vakcíny mají vliv následující faktory: pohlaví, věk, frekvence používání kondomu na začátku studie, frekvence pohlavního styku a trvání vztahu před začátkem studie. Účinnost vakcíny souvisela s těmito faktory: ženské pohlaví, věk kolem 30 let, nečasté používání kondomu, frekvence pohlavního styku průměrná nebo nižší a kratší trvání vztahu. Tato pozorování platila u skupiny ATP i u skupiny ITT.

Analýza sekundárních cílů účinnosti

Prevence herpetického onemocnění pohlavních orgánů (měsíce 7–19)

Po podání třech dávek vakcíny (mezi měsícem 7–19) byla účinnost vakcíny na prevenci herpetického onemocnění pohlavních orgánů u žen pozorována v 81,1 % (95% CI: -58,9; 97,8; $p = 0,111$). V měsících 7–19 nebyla pozorována účinnost vakcíny u mužů (účinnost vakcíny -2,9 %; 95% CI: -624,7; 85,4; $p = 0,99$). Účinnost vakcíny u žen ve skupině ATP v měsících 7–19 odpovídá pozorované účinnosti vakcíny u žen ve skupině ITT při analýze primárního cíle účinnosti.

Prevence HSV infekce

Účinnost vakcíny v prevenci HSV infekce byla ověřována porovnáním skupiny příjemců vakcíny a skupiny příjemců placeba. Celkově nebyla vakcína proti HSV infekci účinná. Avšak v souladu s analýzami prevence onemocnění měla vakcína tendenci být účinná v prevenci HSV infekce u žen ve skupině ITT (účinnost vakcíny 46,0 %; 95% CI: -2,1; 71,4; $p = 0,072$) a ve skupině ATP v měsících 7–19 (účinnost vakcíny 52,8 %; 95% CI: -33,4; 83,3; $p = 0,184$).

Doba vzniku herpetického onemocnění pohlavních orgánů

5 Doba vzniku herpetického onemocnění pohlavních orgánů byla počítána od začátku studie do
objevení se nemoci. Hlavní analýza byla provedena logrank testem; pro každou skupinu byly
sestrojeny Kaplan–Meierovy křivky. Křivky popisující vznik případů onemocnění se u žen (měsí-
ce 2–19, skupina ATP) rozcházely přibližně od devátého měsíce, kdy se případy onemocnění
nadále vyskytovaly ve skupině přijímající placebo. Účinnost vakcíny u žen byla odhadnuta na
10 53,6 % (95% CI: –54,2; 86,0). U žen ve skupině ITT se křivky rozcházely od měsíce 0, statis-
ticky významná účinnost vakcíny byla odhadnuta na 73,2 % (95% CI: 18,7; 91,2; $p = 0,013$).
U mužů nebyla vakcína účinná. Výsledky doby vzniku onemocnění opět odpovídaly analýze pri-
márního cíle.

Závažnost herpetického onemocnění pohlavních orgánů

15 Ke stanovení závažnosti onemocnění byly v obou skupinách stanovovány parametry, jako je
doba trvání léze, doba trvání příznaků v epizodě, počet příznaků v epizodě a intenzita příznaku
v epizodě. V kombinované skupině ATP (měsíce 2–19) byla doba trvání příznaků v epizodě
signifikantně delší v malém počtu případů, které se objevily ve skupině, která dostávala vakcínu
20 ($p = 0,031$). Z dat o závažnosti onemocnění podle pohlaví také vyplývá, že u žen byl ve skupině,
která dostávala vakcínu, statisticky významně vyšší počet lézí herpetického onemocnění pohlav-
ních orgánů v epizodě ($p = 0,010$). Z těchto pozorování lze usuzovat na to, že ačkoli vakcinace
předchází mírným a středně závažným formám onemocnění, onemocněním se závažnější mani-
festací nezabrání.

Celkové závěry

25 Přestože jsou splněny předpoklady pro účinnost vakcíny proti herpetickému onemocnění pohlav-
ních orgánů, analýza primárního cíle účinnost vakcíny v kombinované skupině (muži a ženy)
30 séronegativních zdravých partnerů jedinců s herpetickým onemocněním pohlavních orgánů nepo-
tvrdila. Na základě pozorovaného vlivu pohlaví byla při oddělené sub–analýze podle pohlaví
demonstrována účinnost vakcíny u žen, která je ve skupině ITT statisticky významná. U mužů
není vakcína účinná.

Literatura

- 35
1. Washington AE, Johnson RE a Sanders LL, *Chlamydia trachomatis* infections in the United States: what are they costing us, JAMA, 1987, 257, 2070–2072.
 - 40 2. Grayston JT a Wang SP, New knowledge of *Chlamydiae* and the diseases they cause, the journal of Infectious Diseases, 1975, 132, 87–105.
 3. Grayston JT, Wang SP, Yeh LJ a Kuo CC, Importance of reinfection in the pathogenesis of trachoma, Reviews of Infectious Diseases, 1985, 7, 717–725.
 - 45 4. Morrison RP, Belland RJ, Lyng K a Caldwell HD, Chlamydial disease pathogenesis. The 57–kD Chlamydial hypersensitivity antigen is a stress response protein, J. Exp. Med., 1989, 170, 1271–1283.
 - 50 5. Blander SJ a Amortegui AJ, Mice immunized with a chlamydial extract have no increase in early protective immunity despite increased inflammation following genital infection by the mouse pneumonitis agent of *Chlamydia trachomatis*. Infect. Immun., 1994, 62, 3617–3624.

6. Wang SP, Kuo CC, Barnes RC, Stephens RS a Grayston JT, Immunotyping of *Chlamydia trachomatis* with monoclonal antibodies, *The Journal of Infectious Diseases*, 1985, 152, 791-800.
- 5 7. Bavoil P, Ohlin A a Schachter J, Role of disulfide bonding in outer membrane structure and permeability in *Chlamydia trachomatis*, *Infect. Immun.*, 1984, 44, 479-485.
8. Hatch TP, Miceli M., Sublett JE, Synthesis of disulfide-bonded outer membrane proteins during development cycle of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia trachomatis*, *J. Bacteriol.*, 10 1986, 165, 379-385.
9. Stephens RS, Sanchez-Pescador R, Wagar EA, Inouye C a Urdea MS, Diversity of *Chlamydia trachomatis* Major Outer Membrane Protein genes, *J. Bacteriol.*, 1987, 169, 3879-3885.
- 15 10. Yuan Y, Zhang YX, Watkins NG a Caldwell HD, Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars., *Infect. Immun.*, 1989, 57, 1040-1049.
- 20 11. Baehr W, Zhang YX, Joseph T, Su H, Nano FE, Everett EK a Caldwell HD, Mapping antigenic domains expressed by *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein genes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, 85, 4000-4004.
- 25 12. Lucero ME a Kuo CC, Neutralization of *Chlamydia trachomatis* cell culture infection by serovar-specific monoclonal antibodies, *Infect. Immun.*, 1985, 50, 595-597.
13. Zhang YX, Stewart S, Joseph T, Taylor HR a Caldwell HD, Protective monoclonal antibodies recognize epitopes located on the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*, *J. Immunol.*, 1987, 138, 575-581.
- 30 14. Peterson E, Zhong G, Carlson E a de la Maza LM, Protective role of magnesium in the neutralization by monoclonal antibodies of *Chlamydia trachomatis* infectivity, *Infect. Immun.*, 1988, 56, 885-891.
- 35 15. Zhang YX, Stewart SJ a Caldwell HD, Protective monoclonal antibodies to *Chlamydia trachomatis* serovar- and serogroup- specific major outer membrane protein determinants, *Infect. Immun.*, 1989, 57, 636-638.
- 40 16. Allen JE, Loksley RM a Stephens RS, A singler peptide from the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis* elicits T cell help for the production of antibodies to protective determinants, *J. Immunol.*, 1991, 147, 674-679.
17. Su H, Morrison RP, Watkins NG a Caldwell HD, Identification and characterization of T helper cell epitopes of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*, *J. Exp. Med.*, 45 1990, 172, 203-212.
18. Manning DS a Stewart SJ, Expression of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis* in *Escherichia coli*, *Infect. Immun.*, 1993, 61, 4093-4098.
- 50 19. Koehler JE, Birkelund S a Stephens RS, Overexpression and surface localization of the *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein in *Escherichia Coli*, *Molecular Microbiology*, 1992, 6, 1087-1094.

20. Pickett MA, Ward ME a Clarke IN, High level expression and epitope localization of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis* serovar L1, *Molecular Microbiology*, 1988, 2, 681-685.
- 5 21. Taylor HR, Whittum-Hudson J, Schachter J, Caldwell HD a Prendergast RA, Oral immunization with chlamydial major outer membrane protein (MOMP), *Investigative Ophthalmology and visual Science*, 1988, 29, 1847-1853.
- 10 22. Batteiger BE, Rank RG, Bavoil PM a Soderberg LSF, Partial protection against genital reinfection by immunization of guinea-pig with isolated outer membrane proteins of the chlamydial agent of guinea-pig inclusion conjunctivitis, *Journal of General Microbiology*, 1993, 139, 2965-2972.
- 15 23. Tuffrey M, Alexander F, Conlan W, Woods C a Ward M. Heterotypic protection of mice against chlamydial salpingitis and colonization of the lower genital tract with human serovar F isolate of *Chlamydia trachomatis* by prior immunization with recombinant L1 major outer-membrane protein, *Journal of General Microbiology*, 1992, 138, 1707-1715.
- 20 24. Tuffrey M, Falder P, Gale J a Taylor-Robinson D, Salpingitis i mice induced by human strains of *Chlamydia trachomatis*, *Br. J. exp. Path.*, 1986, 67, 605-616.
- 25 25. Tuffrey M, Falder P., Gale J, Quinn R a Taylor-Robinson D, Infertility in mice infected genitally with human strains of *Chlamydia trachomatis*, *Br. J. exp. Path.*, 1986, 78, 251-260.
- 26 26. Ramsey KH, Soderberg LSF a Rank RG, Resolution of Chlamydial genital infection in B-cell deficient mice and immunity to reinfection, *Infect. Immun.*, 1988, 56, 1320-1325.
- 27 27. Rank RG, Soderberg LSF a Barron AL, Chronic chlamydial genital infection in congenitally athymic nude mice, *Infect. Immun.*, 1985, 48, 847-849.
- 30 28. Igietseme JU a Rank RG, Susceptibility to reinfection after a primary chlamydial genital infection is associated with a decrease of antigen-specific T cell in the genital tract, *Infect. Immun.*, 1991, 59, 1346-1351.
- 35 29. Igietseme JU, Ramsey KH, Magee DM, Williams DM, Kincy TJ a Rank RG, Resolution of murine chlamydial genital infection by the adoptive transfer of a biovar-specific, TH1 Lymphocyte clone, *Regional Immunology*, 1993, 5, 317-324.
- 40 30. Igietseme JU, Magee DM, Williams DM a Rank RG, Role for CD8+ T cell in antichlamydial immunity defined by chlamydial-specific T-lymphocyte clones, *Infect. Immun.*, 1994, 62, 5195-5197.

PATENTOVÉ NÁROKY

- 5 1. Použití glykoproteinu D HSV nebo zkráceného glykoproteinu D, kterým je HSV gD2 zbyte-
ný místa ukotvení na C konci, neboli gD2t; nebo jeho imunologického fragmentu a adjuvans při
přípravě vakcíny pro podávání jedinci ženského pohlaví s HSV1-/2- pro prevenci herpetického
onemocnění pohlavních orgánů.
- 10 2. Použití podle nároku 1, při kterém adjuvans je TH-1 indukující adjuvans.
3. Použití podle kteréhokoli z předcházejících nároků, při kterém vakcína dále obsahuje anti-
gen odvozený z HPV.
- 15 4. Použití podle kteréhokoli z předcházejících nároků, kde antigen nebo kombinace antigenů je
formulována s vhodným nosičem.
5. Použití podle nároku 4, kde nosič je hydroxid hlinitý neboli alum, fosforečnan hlinitý nebo
emulze typu olej ve vodě.
- 20 6. Použití podle kteréhokoli z předcházejících nároků, kde adjuvans je TH-1 indukující adju-
vans 3-O-deacylovaný monofosforylipid A neboli 3D-MPL.
7. Použití podle nároku 6, při kterém částice 3D-MPL jsou tak malé, že se sterilně přefiltrují
25 přes 0,22 mikronovou membránu.
8. Použití podle kteréhokoli z předcházejících nároků, při kterém formulace vakcíny obsahuje
gD2t (1 až 1000 µg), 3D-MPL (10 až 200 µg) a sůl hliníku (100 až 1000 µg).
- 30 9. Použití podle nároku 8, při kterém formulace vakcíny obsahuje gD2t (20 µg), 3D-MPL
(50 µg) a alum (500 µg).
10. Použití podle kteréhokoli z předcházejících nároků, kde formulace vakcíny je podávána,
nebo zpracována pro podávání, jedincům ženského pohlaví v intervalech 0, 1 a 6 měsíců.
- 35 11. Použití podle kteréhokoli z předcházejících nároků, kde formulace vakcíny je ve formě pro
intramuskulární podávání.
- 40

Konec dokumentu
