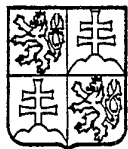


ČESKÁ
A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ
ÚŘAD PRO
VYNÁLEZY

(21) Číslo přihlášky: **3618-91**

(22) Přihlášeno: 28. 11. 91

(40) Zveřejněno: 17. 02. 93

(47) Uděleno: 28. 12. 92

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 17. 02. 93

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.⁵:
A 61 K 39/02

(73) Majitel patentu:

Lékařská fakulta UP, Olomouc, CS;

(72) Původce vynálezu:

Koukalová Dagmar MUDr., Olomouc, CS;

Hájek Václav doc. MUDr. CSc., Olomouc,
CS;

Hamal Petr MUDr., Olomouc, CS;

Látalová Helena, Olomouc, CS;

(54) Název vynálezu:

**Vakcína k léčbě vleklých kvasinkových
zánětů pochvy**

(57) Anotace:

Vakcína určená k léčbě vleklých kvasinkových zánětů pochvy se vyznačuje obsahem 3 kmenů *Candida albicans*, 1 kmene *Candida krusei*, 1 kmene *Torulopsis glabrata* a 3 kmenů *Propionibacterium acnes*. Je použitelná k léčbě vleklých zánětů sliznic i v jiných lokalitách a může být doplňkem léčby antimykotiky u orgánových forem infekcí kvasinkové etiologie.

Oblast techniky

Vynález se týká polymikrobiální vakcíny obsahující kmeny *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Torulopsis glabrata* a *Propionibacterium acnes*. Je určena svou specifickou a nespecifickou imunostimulační aktivitou k léčbě vleklých a opakujících se zánětů pochvy vyvolaných kvasinkovitými mikroorganismy.

Dosavadní stav techniky

Kvasinkové nákazy pochvy patří nesporně k nejčastějším mykotickým infekcím člověka. Jejich akutní formy jsou dobře zvládnutelné běžnými antimykotiky podávanými lokálně. Problematickou však nadále zůstává léčba opakujících se kvasinkových infekcí se sklonem k chronickému průběhu, jejichž počet neustále narůstá. Používají s antimykotika lokálně i celkově, často dlouhodobě a bez efektu.

I když jsou slizniční kvasinkové infekce charakteristické pro pacienty s endokrinopatií, mohou být závažným infektem i u pacientů s defektem buněčné imunity, s poruchou fagocytózy nebo se změnami v oblasti imunity humorální. U těchto případů se také užívá léčby antimykotiky v kombinaci s imunostimulačními látkami typu transferfaktoru nebo s imunomodulátory jako je například levamizol. Jedná se o léčbu ekonomicky a v některých případech i časově náročnou, která má většinou jen dočasný efekt.

Úpornost obtíží a opakovaný neúspěch léčby vedou často ke značné psychické alteraci nemocné. Mohou být ovlivněny i sexuální partnerské vztahy s negativními důsledky pro rodinný život.

Podstata vynálezu

Vakcína podle vynálezu upravuje specifickou imunitní reaktivitu na druhy kvasinkovitých mikroorganismů, které se nejčastěji uplatňují jako etiologické agens u zánětů poševní sliznice. Ovlivnění nespecifické složky imunity zajišťují adjuvantně působící kmeny *Propionibacterium acnes*.

Vakcína podle vynálezu obsahuje jako specificky účinnou složku 3 kmeny *Candida albicans* (CA 37, CA 91, CA 120), jeden kmen *Candida krusei* (CK 9), jeden kmen *Torulopsis glabrata* (TG 15) v neomezeném poměru a jako nespecificky účinnou složku 3 kmeny *Propionibacterium acnes* (PA 3, PA 17, PA 530) v neomezeném poměru. Účinné složky jsou v hmotnostním poměru 1:1. Množství mikrobiální sušiny v 1 léčebné dávce je 5 mg pro perorální podání v 7 mg pro vaginální podání.

Léčba vakcínou podle vynálezu je ekonomicky méně náročná než dosavadní způsoby terapie. Během vakcinoterapie nejsou pozorovány vedlejší nepříznivé účinky. Poměrně rychle nastupující efekt vakcíny je trvalejšího charakteru, zejména při současně probíhající poševní a perorální aplikaci.

Užití vakcíny v perorální formě je možné bez rizika i v dětském věku, je vhodné k léčbě kvasinkových infekcí u endokrinopatií a u poruch imunity.

Vakcína podle vynálezu podstatně zkracuje léčbu chronických forem onemocnění a prodlužuje intervaly mezi recidivami. Nepřímo zvyšuje důvěru mezi partnery a eliminuje negativní důsledky choroby v rodině.

Vakcína podle vynálezu se dá použít ve zdravotnictví. V humaní medicíně je určena k léčbě vleklých a opakujících se kvasinkových infekcí pochvy. V perorální formě je použitelná k léčbě vleklých zánětů sliznic i v jiných lokalitách. Může být také doplňkem léčby antimykotiky u orgánových forem, infekce kvasinkové etiologie.

Vakcína podle vynálezu se s výhodou aplikuje perorálně ve formě tablet. Obě formy lze podávat současně. Aplikační formy se připravují tak, aby jedna perorální dávka obsahovala 5 mg a jedna vaginální tableta 7 mg mikrobiální směsi.

Příklad provedení vynálezu

Příklad 1

Kmeny *Candida albicans* CA 37, CA 91, CA 120, *Candida krusei* CK 9, *Torulopsis glabrata* TG 15 byly kultivovány celofánovou technikou na glukosopeptonovém agaru při 37 °C po dobu 48 h, ve vzdušné atmosféře obsahující 10 % CO₂. Pomnožená kultura byla spláchnuta destilovanou vodou a dezintegrována opakovaným zmrazováním. Získaný lyzát byl inaktivován formolem (0,1 ml ve 4 % formolu na 1 ml suspenze). Po kontrole sterility byl sterility byl veškerý materiál lyofilizován.

Kmeny *Propionibacterium acnes* PA 3, PA 17, PA 530 byly kultivovány celofánovou technikou na VL agaru s 10 % berání krve při 37 °C po dobu 48 h, v dusíkové atmosféře s 10 % CO₂. Po pomnožení byla bakteriální těla spláchnuta v extrahována destilovanou vodou 24 h při 4 °C. Získaná bakteriální masa byla inaktivována zahřátím na teplotu 60 °C po dobu 1 h, opakovaně nejméně 3x v intervalu 24 h. Po kontrole sterility byl veškerý materiál lyofilizován.

Finální forma vakcíny byla připravena:

- I.1. Smícháním sušin kmenů *Candida albicans* CA 37, CA 91, CA 120, *Candida krusei* CK 9, *Torulopsis glabrata* TG 15 v hmot. poměru 1:1:1:1:1 pro jednotlivé kmeny
 2. Smícháním sušin kmenů *Propionibacterium acnes* PA 3, PA 17, PA 530 v hmot. poměru 1:1:1 pro jednotlivé kmeny.
- II. Smícháním sušin 1. a 2. v hmot. poměru 1:1.

Příklad 2

Kmeny *Candida albicans* CA 37, CA 91, CA 120, *Candida krusei* CK 9, *Torulopsis glabrata* TG 15 byly kultivovány fermentorovou technikou v tekuté glukosopeptonové půdě při 37 °C po dobu 48 h. Po pomnožení byla kultura kvasinek oddělena od živného média opakovaným promytím v destilované vodě a centrifugována při 2 000 až

2 500 G. Izolovaná těla kvasinek byla dezintegrována zmrazováním a inaktivována formou (0,1 ml 4 % formolu na 1 ml suspenze). Po kontrole sterility byl veškerý materiál lyofilizován.

Kmeny *Propionibacterium acnes* PA 3, PA 17, PA 530 byly kultivovány fermentorovou technikou ve VL bujónu při 37 °C po dobu 48 h. Po pomnožení byla bakteriální těla oddělena od živného média opakovaným promytím v destilované vodě a centrifugací při 2 000 až 2 500 G. Izolovaná bakteriální těla byla extrahována destilovanou vodou 24 h při 4 °C a inaktivována zahřátím na teplotu 60 °C po dobu 1 h, nejméně 3x v intervalu 24 h. Po kontrole sterility byl veškerý materiál lyofilizován.

Finální forma vakciny byla připravena:

I.1. Smícháním sušin kmenů *Candida albicans* CA 37, CA 91, CA 120, *Candida krusei* CK 9, *Torulopsis glabrata* TG 15 v hmot. poměru 1:1:1:1:1 pro jednotlivé kmeny.

2. Smícháním sušin kmenů *Propionibacterium acnes* PA 3, PA 17, PA 530 v hmot. poměru 1:1:1 pro jednotlivé kmeny.

II. Smícháním sušin 1. a 2, v hmot. poměru 1:1.

Farmakologické testy

Byl ověřován vliv vakciny na retikuloendotelový systém SPF myši. Jednorázová dávka 1,5 mg byla podávána intraperitoneálně skupině 20 myši. Po 10 dnech od podání vakciny byla zvířata usmrcena a byla provedena histologická vyšetření sleziny a jater. Získané výsledky prokázala silnou stimulaci retikuloendotelového systému.

Skupina myši byla infikována kmenem *Candida albicans* v dávce LD₅₀ intravenózně do ocasní žíly 14. den po vakcinaci. Infekce usmrtila 3 myši 4. den infekce, během 8. až 10. dne uhynulo dalších 9 z celkového počtu 15 myši. U stejně velké kontrolní skupiny uhynulo 14 myši již 2. až 3. den infekce.

Vlivem nespecifické prevence vakcinou byla zvířata mnohem více odolná k letálním infekcím i virového původu. Myši byly infikovány virem EMC v dávce LD₁₀ v intervalech 24 h, 4 a 8 dní po naočkování vakcinou. Ze skupiny myši infikovaných virem EMC 24 h po aplikaci vakciny uhynulo až 11. den 60 %, z myši infikovaných 4 dny po vakcinaci jen 20 %, zatímco z myši infikovaných 8 dnů po vakcinaci 40 %. Myši kontrolní skupiny uhynuly ve 100 %.

Klinické testy u pacientek s vaginální mykózou:

Celkový počet pacientů (ženy) 175

Způsob aplikace	% úspěšných aplikací
Perorální (99 pacientů)	72,7 (72 pacientů)
Lokální (54 pacientů)	68,5 (37 pacientů)
Kombinace perorální a lokální (22 pacientů)	77,3 (17 pacientů)

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Vakcína k léčbě vleklých kvasinkových zánětů pochvy, vyznačující se tím, že obsahuje jako specificky účinnou složku 3 kmeny *Candida albinans*, jeden kmen *Candida krusei*, jeden kmen *Torulopsis glabrata* v neomezeném poměru a jako nespecificky účinnou složku 3 kmeny *Propionibacterium acnes* v neomezeném poměru s tím, že účinné složky jsou v hmot. poměru 1:1, přičemž podíl obsahu jednotlivých složek se liší nejvýše o 10 % a celková množství mikrobiální sušiny v 1 léčebné dávce je 4,5 až 5,5 mg pro perorální podání nebo 6,5 až 7,5 mg pro vaginální podání.
2. Vakcína podle bodu 1, vyznačující se tím, že obsahuje kmeny *Candida albinans* CA 37, CA 91, CA 120, *Candida krusei* CK 9, *Torulopsis glabrata* TG 15 a kmeny *Propionibacterium acnes* PA 3, PA 17, PA 530.

Konec dokumentu
