



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

203718
(11) (B1)

(22) Přihlášeno 21 02 79
(21) (PV 1155-79)

(40) Zveřejněno 30 06 80

(45) Vydáno 15 05 83

(51) Int. Cl.³
A 61 K 39/02

(75)

Autor vynálezu

VÝMOLA FRANTIŠEK MUDr. CSc., PRAHA
a PILLICH JIŘÍ RNDr. CSc., BRNO

(54) Stafylokoková vakcína s polyvalentním účinkem pro injekční nebo topické, např. instilační použití

1

Vynález se týká stafylokokové vakcíny s polyvalentním účinkem pro injekční nebo topické, například instilační použití. Tato vakcína je určena k léčbě nebo prevenci stafylokokových onemocnění tím, že příznivě ovlivňuje obranné mechanismy (humorální a celulární imunitu) hostitele a chrání ho tak před rozvojem nebo vznikem jakékoliv formy onemocnění stafylokokové etiologie.

V současné době není k dispozici jiná účinnější léčebná a preventivně působící specifická očkovací látka s polyvalentním účinkem.

Stafylokokové infekce patří k onemocněním rozšířeným po celém světě vyskytujícími se u lidí i u zvířat. Představují stále i v údobí moderní chemoterapie závažný zdravotnický, společenský, etický a ekonomický problém.

Vznik stafylokokové infekce je výslednicí interakcí mezi úspěšným parazitem, t. j. stafylokokem a hostitelem. Závažnější stafylokokovou infekcí onemocní většinou osoby s alterovanými obrannými mechanismy v oblasti humorální a celulární imunity, včetně patologických stavů přecitlivělosti. K faktorům, které přispívají ke vzniku pyogenní stafylokokové infekce patří zejména porušená bariéra kůže a podkoží, porušená per-

2

meabilita sliznic, hlavně respiračního a střevního traktu, virová onemocnění i celá řada jiných chorobných stavů.

Velmi závažným faktorem, poskytujícím možnosti k uplatnění patogenních vlastností stafylokoků, je nemocniční prostředí. Ke vzniku nemocničních nákaz přispívá i nevhodná chemoterapie a paušální podávání antibiotik v necílené profylaxi, dále léčba hormonální a terapie glukokortikoidy.

Mnoho sporných otázek, které dosud podle literatury existují o patogenese a imunologii stafylokokových infekcí, vzniklo často jednostranným přístupem k interpretaci získaných dílčích nálezů a údajů. Při znalosti skutečnosti, že vznik stafylokokové infekce je výslednicí interakcí hostitele a velmi vzatelného stafylokoka, který úspěšně parazituje, a že tato interakce má svou kontinuální dynamiku, je snadnější odpovědět na otázku, proč u některých jedinců dochází ke vzniku stafylokokové infekce a které z celé řady možných faktorů její vznik v daném čase a oblasti umožňují.

Charakteristickým rysem stafylokokových infekcí je i tendence k recidivám. K novým rekrudescencím dochází novou aktivací patogenních vlastností stafylokoků, které perzistují v nekrotických ložiscích nebo drobných lezích, nebo které rezidentně sídlí na

sliznicích nasofaryngu a kůže, jež představují potenciální rezervoár infektu a mohou se významně uplatnit při patologické přecitlivělosti. Při nekompletní specifické imunitě nebo insuficientní nespecifické rezistenci může infekce vzplanout po invazi zcela jiným stafylokokem, odlišným od původního.

Dosavadní nedostatky a léčebné neúspěchy, zejména chronických a recidivujících stafylokokových infekcí radikálně zlepšuje komplexní léčba, jejíž základ tvoří specifická stafylokoková vakcína s polyvalentním účinkem pro injekční nebo topické, např. instilační použití, určená k léčbě nebo prevenci stafylokokových onemocnění, podle vynálezu.

Její podstata spočívá v tom, že ve sterilním vodném mediu s hodnotou pH 7,0 až 7,2 obsahuje jako účinné složky fágové partikule a komplex stafylokokových antigenů, tvořený kapsulárním antigenem, proteinem A, kyselinou ribitol-teichoovou a toxidy ze stafylokokových alfa-, beta a delta lyzínů.

Stafylokoková vakcína podle vynálezu obsahuje komplex významných antigenů-imunogenů, které se získávají preparací (elucí), dezintegrací a lýzou produkčních kmenů fágů. Antigeny pocházejí z cytoplazmatického obsahu, z ribosomů, povrchových stěn buněčných i extracelulárních produktů.

Antigenní komplex požadovaných vlastností stimuluje lokální a systémovou imunitu v oblasti humorální a celulární imunity. Vedle specifické sérové imunity musí stimulovat aktivitu opsoninů, migraci lymfocytů, činnost fagocytárního i komplementárního systému. Snižuje také celulární hypersenzitivitu po intrakutánní hyposenzitizaci.

Pro přípravu základní báze stafylokokové vakcíny s polyvalentním účinkem podle vynálezu se bakteriální hostitelská kultura kultivuje v tryptofanovém mediu na třepačce ve vodní lázni při teplotě 35,5 až 37 °C. K narostlé bakteriální kultuře se přidá aktivní specifický fágový kmen. Po proběhlé lýze se lyzát centrifuguje. Elektroforézou se ověří antigenní skladba bakteriálního lyzátu. Bakteriální kultura pro přípravu vakcíny pochází z klinického nebo patologického materiálu. K bezprostřednímu použití je použita mutanta, která obsahuje antigeny nutné k imunizaci. Obdobně specifický fág pochází z bakteriální kultury izolované z patologického materiálu a jako umělá mutanta je použit k lýze bakteriální kultury.

Stafylokoková kultura musí vykazovat dokonalou adsorpci a produkci příslušného specifického fága, musí projevovat ztrátu lyzogenie, musí být citlivá na většinu antibiotik, vykazovat stabilitu požadované antigenní struktury při elektroforetickém sledování a dobře růst na jednoduchých půdách. Specifický aktivní fág, který se použije k lýze hostitelské bakteriální kultury, musí být homogenní, nesmí být lyzogenní, musí dokonale lýzovat hostitelskou kulturu

pro přípravu báze stafylokokové vakcíny, musí mít stabilní titr účinnosti (tj. koncentraci aktivních fágových partikul na 1 ml), nesmí být získán z kmene *Staphylococcus aureus* rezistentního na většinu antibiotik. Kontrola čistoty a stability fágového kmene se provádí specifickým antisérem.

Výsledek elektroforézy stanoví, kolik nebo kterou antigenní složku nutno přidat k základní bázi preparátu.

Stafylokoková vakcína s polyvalentním účinkem podle vynálezu je sterilní, téměř čirá, žlutě zbarvená tekutina obsahující všechny imunogeny v množstvích, která zajišťují stimulaci humorální a celulární imunity. pH vakcíny je 7,0 až 7,2. Vakcína nemá pyrogenní vlastnosti a není v ní žádná konzervační látka. Po aplikaci vakcíny nebyla zaznamenána nikdy hypersenzitivní ani toxická reakce, byly-li dodrženy příslušné instrukce pro její aplikaci.

Stafylokoková vakcína je standardizována na základě obsahu bakteriálních buněk před lyzí a podle elektroforetické analýzy. Výsledky určí množství příslušných antigenů, které je nutno přidat k základní bázi preparátu.

Stafylokoková vakcína podle vynálezu je určena především k parenterální (intrakutánní; subkutánní) aplikaci, a to ke stimulaci celkové imunity. Je možno ji používat také místně (kapání, spray, instilace), ke stimulaci lokální slizniční imunity. Obě aplikační formy se výhodně doplňují.

Stafylokoková vakcína podle vynálezu je výhodná především tím, že zásadně řeší léčbu stafylokokových onemocnění s chronickým a subakutním průběhem nejen u lidí, ale i u zvířat (mastitidy), při širším použití výrazně snižuje narůstání bakteriální rezistence na antibiotika a zcela znemožňuje její šíření, protože se antibiotika při vakcinaci téměř neindikují. Léčba vakcínou podle vynálezu je významná nejen celospolečensky, ale také ekonomicky, protože je ve srovnání s jinou léčbou, například chemoterapií, mnohem levnější a při tom výrazně efektivnější. Podrobnosti přípravy vyplývají z následujícího příkladu.

Příklad provedení

Výchozí kmen *Staphylococcus aureus*, získaný z klinického materiálu, se kultivuje po dobu 16 až 18 hodin na třepačce při teplotě 35 až 37 °C v mediu tohoto složení:

trypton prášk.	10,0 g
kvasničný extrakt prášk.	3,0 g
chlorid sodný	7,0 g
voda destilovaná do	1000,0 ml.

K narostlé bakteriální kultuře se přidá příslušný aktivní fágový kmen, získaný jako mutanta z prostředí temperovaných bakteriofágů a nechá se probíhat lýze. Po jejím ukončení (za 3 až 6 hodin) se lyzát centrifuguje, aby se báze vakcíny zbavila detritu.

Elektroforézou se ověří kvalitativně i kvantitativně složení antigenního komplexu získané báze a případná nedostatečná množství jednotlivých složek nebo chybějící složky se doplní. Komplex má tyto složky: kapsulární antigen, ribitolteichoovou kyselinu, protein A, a toxoidy z alfa-, beta- a delta-lyzínu, které se získávají známými metodami z příslušných stafylokokových kmenů.

Připravená vakcína se podrobí těmto kontrolním zkouškám: in vitro se zjišťuje sterilita a obsah dusíku, pyrogenní vlastnosti a

toxicita na zvířatech, kožní reaktivita na lidských dobrovolnících a celková snášenlivost. Složení a kvalita vakcíny se ověřuje elektroforeticky a protektivními zkouškami na laboratorních zvířatech (myši, králíci). Nová šarže vakcíny se konečně ověřuje na nemocných postižených hlavně chronickou formou osteomyelitidy, furunkulózy aj.

Stafylokoková vakcína je určena k léčbě všech forem stafylokokových onemocnění s chronickým, popřípadě subakutním průběhem.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Stafylokoková vakcína s polyvalentním účinkem pro injekční nebo topické, například instilační použití, určená k léčbě nebo prevenci stafylokokových onemocnění, vyznačující se tím, že ve sterilním vodném médiu s hodnotou pH 7,0 až 7,2 obsahuje jako účinné

složky fágové partikule a komplex stafylokokových antigenů, tvořený kapsulárním antigenem, proteinem A, kyselinou ribitolteichovou a toxoidy ze stafylokokových alfa-, beta- a delta-lyzínů.