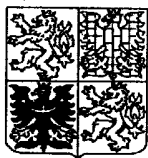


PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

288 417

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 1997 - 2674

(22) Přihlášeno: 15.02.2096

(30) Právo přednosti:
25.02.1995 GB 1995/9503863

(40) Zveřejněno: 18.02.2098
(Věstník č. 2/1998)

(47) Uděleno: 11.04.2001

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 13.06.2001
(Věstník č. 6/2001)

(86) PCT číslo: PCT/EP96/00681

(87) PCT číslo zveřejnění: WO 96/26741

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl.⁷:

A 61 K 39/39

A 61 P 31/12

//(A 61 K 39/39, A 61 K 39:29; A 61
K 39:12, A 61 K 31:715)

(73) Majitel patentu:

SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.
A., Rixensart, BE;

(72) Původce vynálezu:

Hauser Pierre, Rixensart, BE;
Garcon Nathalie Marie-Josephe Claude, Rixensart, BE;
Desmons Pierre, Rixensart, BE;

(74) Zástupce:

Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha 1,
11196;

(54) Název vynálezu:

Vakcína proti hepatitidě B a způsob její výroby

(57) Anotace:

Předmětem tohoto řešení je nová vakcína s vysokou účinností, obsahující složku hepatitidy B, zvláště povrchový antigen hepatitidy B v kombinaci s fosforečnanem hlinitým a 3-de-O-acylovaným monofosforyllipidem A. Je popsán také způsob výroby této vakcíny.

Vakcína proti hepatitidě B a způsob její výroby

Oblast techniky

5

Předkládaný vynález se týká nových vakcín a způsobu jejich přípravy. Vynález se zvláště týká nových prostředků pro léčení hepatitidových infekcí a kombinovaných vakcín, obsahujících složku vakcíny hepatitidy B.

10

Dosavadní stav techniky

Virová hepatitida, způsobená virem hepatitidy A, B, C, D a E je velmi běžné virové onemocnění. Zvláště díky virům B a C je odpovědná také za mnoho případů nádorů jater. Vývoj účinných vakcín je proto kritický úkol a přes významné úspěchy zbývá ještě udělat mnoho práce. Přehled moderních vakcín proti hepatitidě včetně množství klíčových referencí je možno nalézt v: Lancet, 12. května 1990 na str. 1141 a dále (prof. A. L. W. F. Eddleston), viz také „Viral Hepatitis and Liver Disease“ (Vyas, B. N., Dienstag, J. L., a Hoofnagle, J. H., red., Grune and Stratton, Inc. (1984) a „Viral Hepatitis and Liver Disease“ (Proceedings of the 1990 International Symposium, red. F. B. Hollinger, S. M. Lemon a H. Margolis, publikováno firmou Williams and Wilkins).

Výraz „antigen hepatitidy B“ se zde používá ve vztahu k jakémukoliv antigennímu materiálu, odvozenému z viru hepatitidy B, který může být použit pro indukci imunity vůči viru u člověka.

Infekce virem hepatitidy B (HBV) je široce rozšířený problém, avšak dnes jsou k dispozici vakcíny, kterých je možno použít pro masovou imunizaci, například produkt „Engerix-B“ (SmithKline Beecham plc), který se získává technikami genetického inženýrství.

Příprava povrchového antigenu hepatitidy B (HBsAg) je velmi dobře popsána; viz například Harford a další v Develop. Biol. Standard 54, str. 124 (1983), Gregg a další v Biotechnology, 5, str. 479 (1987), EP A 0 226 846, EP A 0 299 108 a tam uvedené reference.

Výraz „povrchový antigen hepatitidy B“ nebo „HBsAg“ zahrnuje jakýkoliv antigen HBsAg nebo jeho fragment, který má antigenní účinek povrchového antigenu HBV. Rozumí se, že navíc k sekvenci 226 aminokyselin antigenu HBsAg S (viz Tiollais a další, Nature, 317, 489 (1985) a tam uvedené reference), může HBsAg, jak je zde popisován, obsahovat v případě potřeby celou nebo část pre-S sekvence, jak je popsáno ve výše uvedených pramenech a v EP A 0 278 940. HBsAg může obsahovat zvláště polypeptid obsahující sekvenci aminokyselin, která obsahuje zbytky 12 - 52, následované zbytky 133 - 145, následované zbytky 175 - 400 L-proteinu HBsAg vzhledem k otevřenému čtecímu rámci na viru hepatitidy B sérotypu ad (tento polypeptid se označuje jako L*; viz EP 0 414 374). HBsAg v rámci vynálezu může obsahovat také polypeptid preS1-preS2-S, popisovaný v EP 0 198 474 (Endotronics) nebo jeho analogy, jako polypeptidy popsané v EP 0 304 578 (Mc Cormick and Jones). HBsAg, jak se zde popisuje, se může také vztahovat k mutantům, například k „únikovému mutantu“ (escape mutant), popisovanému ve WO 91/14703 nebo zveřejněné evropské patentové přihlášce EP 0 511 855 A1, zvláště HBsAg, kde je přítomna substituce aminokyseliny v poloze 145 z glycinu na arginin.

HBsAg bude normálně ve formě částic. Částice mohou obsahovat například samotný protein S nebo může jít o kompozitní částice, například (L*, S), kde L* je jak definováno výše a S označuje S-protein HBsAg. Uvedená částice je s výhodou v té formě, ve které je exprimována kvasinkami.

Zatímco experimentálně a komerčně dostupné vakcíny proti hepatitidě, například Engerix-B, dosahují vynikajících výsledků, je uznávanou skutečností, že optimální vakcína potřebuje pro stimulaci nejen neutralizační protilátku, ale potřebuje také stimulovat co nejúčinněji buněčnou

imunitu, zprostředkovanou T-buňkami. Mezinárodní patentová přihláška WO 93/19780 popisuje kombinované vakcíny se složkou hepatitidy B, založené na povrchovém antigenu hepatitidy B, hydroxidu hlinitém a 3-de-O-acylovaném monofosforyllipidu A. Prostředek s obsahem fosforečnanu hlinitého nebyl navrhován.

Předkládaný vynález překvapivě poskytuje prostředek až čtyřikrát účinnější, než prostředek popisovaný v WO 93/19780.

Podstata vynálezu

Předkládaný vynález tedy poskytuje vakcínu obsahující antigen hepatitidy B ve spojení s 3-O-deacylovaným monofosforyllipidem A (zkracovaným zde jako MPL) a fosforečnanem hlinitým.

3-O-deacylovaný monofosforyllipid A (nebo 3-de-O-acylovaný monofosforyllipid A) byl dříve nazýván 3D-MPL nebo d3-MPL pro označení, že poloha 3 redukujícího konce glukosaminu je de-O-acylována. Přípravu je možno nalézt v GB 2 220 211 A. Chemicky jde o směs 3-deacylovaného monofosforyllipidu A s 4, 5 nebo 6 acylovanými řetězci. Zde se termín 3D-MPL (nebo d3-MPL) zkracuje jako MPL, protože „MPL“ je registrovaná obchodní známka firmy Ribi Immunochem., Montana, která je používána firmou Ribi pro jednoznačné označení jejich produktu 3-O-deacylovaného monofosforyllipidu A.

S výhodou je ve vakcínách podle předkládaného vynálezu používán MPL ve formě malých částic. MPL ve formě malých částic má velikost částic obecně menší než 120 nm. Tyto prostředky se popisují v mezinárodní patentové přihlášce WO 94/21292.

V GB 2 220 211 A se uvádí, že endotoxická dříve používaných enterobakteriálních lipopolysacharidů (LPS) se snížila, zatímco imunogenní vlastnosti jsou zachovány. GB 2 220 211 však citovala tato zjištění pouze ve spojení s bakteriálními (gramnegativními) systémy. Překvapivě však bylo zjištěno, jak se zde popisuje, že vakcínové prostředky obsahující virové antigeny hepatitidy B podle vynálezu mají zvláště výhodné vlastnosti.

Zvláště výhodné je, že vakcíny podle vynálezu jsou velmi účinné při indukovaní ochranné imunity i při velmi nízkých dávkách antigenu.

Nové vakcíny dovolují zvýšení imunogenicity ekvivalentní běžně dostupným prostředkům proti hepatitidě B po dvou dávkách. Ekvivalentních hladin protilátek bylo zvláště dosaženo v klinickém pokusu na lidech při dvou dávkách vakcíny ve srovnání se třemi dávkami vakcíny Engerix-B.

Vakcíny podle vynálezu poskytují vynikající ochranu proti primární infekci a výhodně stimulují jak specificky humorální (neutralizační protilátky), tak i efektorovými buňkami zprostředkované (DTH) imunologické odpovědi.

Další důležitou výhodou je, že vakcíny podle vynálezu mohou být také použity jako terapeutické vakcíny. MPL, jak je definováno výše, bude normálně přítomen v dávkách v rozmezí 10 - 100 µg, s výhodou 25 - 50 µg na dávku, kde antigen hepatitidy B bude typicky přítomen v dávce v rozmezí 2 - 50 µg a fosforečnan hlinitý bude přítomen v množství v rozmezí 500 mg (Al³⁺) na dávku.

Výhodné provedení podle vynálezu je antigen HBsAgS (například jako v Engerix-B) ve směsi s MPL a fosforečnanem hlinitým, jak se zde popisuje dále.

Dalším specifickým provedením vynálezu je antigen HBsAg jako částice (L*, S), které jsou definovány výše, ve směsi s MPL a fosforečnanem hlinitým.

5 Vakcína je vhodná zvláště pro použití při léčení nebo profylaxi hepatitidových virových infekcí. Ve výhodném provedení je vakcína podle vynálezu terapeutická vakcína, použitelná pro léčení nastupujících infekcí hepatitidy B. V dalším provedení obsahuje hepatitidová vakcína podle vynálezu jiné antigeny, takže je účinná při léčbě a prevenci jedné nebo více dalších bakteriálních, virových nebo houbových infekcí.

10 Vakcína proti hepatitidě B podle jednoho provedení vynálezu tedy obsahuje alespoň jednu další složku, zvolenou z jiných hepatitidových antigenů, zvláště antigenu hepatitidy A, nebo nehepatitidových antigenů, které jsou známy v oboru jako poskytující ochranu proti jednomu nebo více z následujících onemocnění: záškrt, tetanus, černý kašel, Haemophilus influenzae b (Hib) a dětská obrna. Mohou být rovněž zahrnuty antigeny proti meningitidě A, B nebo C.

15 Vakcína podle vynálezu s výhodou zahrnuje HBsAg, jak je definován výše.

20 Konkrétní kombinované vakcíny v rámci vynálezu zahrnují kombinovanou vakcínu DTP (difterie-tetanus-pertusis) - hepatitida B; vakcínu Hib-Hepatitida B, vakcínu DTP-Hib-Hepatitida B a vakcínu IPV (inaktivovaná vakcína proti dětské obrně) - DTP - Hib - Hepatitida B.

Hepatitidová vakcína nebo výše uvedené kombinace mohou s výhodou obsahovat složku, která chrání proti hepatitidě A, zvláště usmrcený oslabený kmen, odvozený z kmene HM-175, jak je přítomen ve vakcíně Havrix.

25 Vhodné složky pro použití v takových vakcínách jsou již komerčně dostupné a podrobnosti lze získat od Světové zdravotnické organizace (WHO). Například složkou IPV může být Salkova inaktivovaná vakcína proti dětské obrně. Vakcína proti černému kašli může obsahovat celé buňky nebo bezbuněčný produkt, spojený s antigenem záškrty a tetanu, jako je Infanrix DTPa, který obsahuje tři antigeny B. pertusis: 69kDa, toxin černého kašle (inaktivovaný) a FHA.

30 V jednom hledisku může být vakcína proti hepatitidě nebo kombinovaná vakcína podle vynálezu pediatriká vakcína.

35 Příprava vakcín se obecně popisuje v New Trends and Developments in Vaccines, red.Voller a další, University Park Press, Baltimore, Maryland; USA, 1978. Zapouzdření do lipozomů se například popisuje v: Fullerton, US patent 4 235 877. Konjugace proteinů s makromolekulami se například popisuje v: Likhite, US patent 4 372 945 a v: Armor a další, US patent 4 474 757.

40 Množství antigenu v každé dávce vakcíny se v typické vakcíně volí jako množství, které indukuje imunoprotektivní odpověď bez výrazných nepříznivých vedlejších testů. Toto množství se bude lišit v závislosti na tom, jakých specifických antigenů se použije. Obecně se očekává, že každá dávka bude obsahovat 1 - 1000 µg celkového antigenu, s výhodou 2 - 200 µg. Optimální množství pro konkrétní vakcínu je možno stanovit standardními studiemi, které zahrnují pozorování titrů protilátek a dalších reakcí v pacientovi. Po počáteční vakcinaci může pacient dostat jednu nebo více posilujících dávek například po dvou a šesti měsících.

45 V dalším provedení předkládaného vynálezu se poskytuje způsob výroby vakcíny účinné při prevenci nebo léčení hepatitidové infekce, kde způsob zahrnuje mísení hepatitidového antigenu tak, jak je zde definován ve správném pořadí s fosforečnanem hlinitým a MPL.

55 S použitím tohoto způsobu se s výhodou přimísí k HBsAg jedna nebo více dalších složek za poskytnutí kombinované vakcíny. Je možno použít několika způsobů mísení. V jednom způsobu může být každý antigen odděleně absorbován na fosforečnan hlinitý a po určité době může být před přidávkem ředícího roztoku přidán MPL.

Je zřejmé, že vakcína podle vynálezu je použitelná pro indukci titrů neutralizační protilátky hepatitidy B u člověka, vnímavého k nebo trpícího infekcí hepatitidy B v rozmezí 10 mU, podáním prostředku jak je zde definován v jedné nebo ve dvou dávkách.

Vynález a jeho výhody ilustrují následující příklady.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Vakcína proti hepatitidě B

MPL (3 de-O-acylovaný monofosforyllipid A) byl získán od firmy Ribi Immunochem Research Inc. Fosforečnan hlinitý byl získán od firmy Superphos (Dánsko).

MPL byl resuspendován ve vodě pro injekce v koncentraci od 0,2 do 3 mg/ml pomocí sonikace, dokud částice nedosáhly velikosti mezi 80 - 200 nm, měřeno pomocí fotokorelačního rozptylu světla.

Při pokojové teplotě se za míchání po dobu 1 h absorbuje na 5 - 1000 μg fosforečnanu hlinitého (roztok při 3 - 6 Al^{3+} mg/ml) 1 - 20 μg HBsAg (antigen S jako v Engerix-B) ve fosfátovém pufru při 0,5 - 3 mg/ml). Směs byla 15 dnů skladována při pokojové teplotě a potom před dalším zpracováním udržována při 4 °C. Potom bylo k roztoku přidáno 5 - 200 μg MPL (roztok 0,2 - 10 mg/ml). Objem a osmolarita byly vodou pro injekce a roztokem soli nastaveny na 500 - 1000 μl . Byl přidán thiomersal (1 % hmotnost/objem) a konečnou koncentraci 0,005 %, čímž vznikl konečný produkt.

Podobný prostředek byl připraven s použitím směsného (L*, S) antigenu jako složky HBsAg, jak je definováno výše. V tomto prostředku byl použit jako bakteriostatický prostředek 2-fenoxy-ethanol.

Příklad 2

Klinické studie povrchového antigenu hepatitidy B, použitého v prostředku s 3-deacylovaným monofosforyllipidem A a fosforečnanem hlinitým

Při klinickém testování byly porovnávány různé vakcíny obsahující povrchový antigen hepatitidy B. Jde o následující skupiny:

Skupina 1 HBsAg (20 μg)/MPL (50 μg)/ AlPO_4 (Al: 500 μg)/thiomersal (50 μg)/150 mM NaCl/pH 6,1 v objemu 1 ml připraveno jako příklad 1.

Skupina 2 HBsAg (20 μg)/MPL (50 μg)/ $\text{Al}(\text{OH})_3$ (Al: 100 μg)/thiomersal (50 μg)/10 mM fosfátový pufr + 150 mM NaCl/pH 6,8 v objemu 1 ml.

Skupina 3 HBsAg (20 μg)/MPL (50 μg)/ $\text{Al}(\text{OH})_3$ (Al: 500 mg)/thiomersal (50 μg)/10 mM fosfátový pufr + 150 mM NaCl/pH 6,8 v objemu 1 ml.

Skupina 4 jako Engerix

HBsAg (20 µg)/MPL (0 µg)/Al(OH)₃ (Al: 500 µg)/thiomersal (50 µg)/10 mM fosfátový pufr + 150 mM NaCl/pH 6,8 v objemu 1 ml.

- 5 Skupina 5 HBsAg (20 µg)/MPL (0 µg)/AlPO₄ (Al: 500 µg)/thiomersal (50 µg)/150 mM NaCl/pH 6,1 v objemu 1 ml.

Pro test byl proveden nábor dobrovolníků ve věku 18 - 40 let. Každá skupina (v den 0 měla přibližně 60 dospělých) byla intramuskulárně do deltoidní oblasti vakcinována v den 0 a o 2 měsíce později. Před první injekcí byl odebrán vzorek krve stejně jako 2 měsíce po první injekci a 1, 2 a 4 měsíce po druhé injekci. Protilátky anti-HBs byly měřeny s použitím kitu AUSAB (Abbott) a standardu WHO, kalibrovaném v mIU/ml. Účastníci měli titr ≥ 1 mIU/ml. Pro každý bod byla pro osoby se zvýšením titru vypočtena hodnota GMT (Geometric Mean Titre).

Výsledky

Hodnoty GMT se pro každou vakcínu udávají v tabulce 1 a rozdělení titrů protilátky v každé skupině očkovaných podle velikosti se udává v tabulce 2.

Výsledky GMT (tabulka 1) jasně ukazují, že po dvou dávkách je u vakcíny obsahující AlPO₄ + MPL (skupina 1) pozorován více než desetinásobný vzrůst titrů po druhé dávce ve srovnání s titrem dosaženým s pomocí komerční vakcíny Engerix B (skupina 4). Odpověď protilátek anti-HBs je rovněž rychlejší a 51 a 70 % očkovaných má ochranný titr (10 mIU/ml) 1 a 2 měsíce po první dávce (ve srovnání s 34 a 16 % pro Engerix B) (tabulka 2). Přídavek 3D-MPL k vakcíně Engerix B (skupina 3) a použití pouze AlPO₄ (skupina 5) mírně zvýší odpověď protilátek anti-HBs (ve srovnání s Engerix B), ale titry jsou stále 4 - 5 x nižší než u prostředků s AlPO₄ + MPL. Adsorpce HBsAg na sníženou dávku Al(OH)₃ + MPL poskytuje titry podobné titrům, dosahovaným s vakcínou Engerix B. Tyto výsledky ukazují, že pro optimální přírůstek odpovědi protilátek anti-HBs u vakcín po pouhých dvou dávkách je nutný jak AlPO₄, tak i MPL.

Tabulka 1

Procento osob se zvýšením titru a geometrická střední hodnota titru protilátky anti-HBs (GMT) u osob se zvýšeným titrem: předběžná analýza

Skupina	Čas podání	N	S+	%	GMT	CL 95% dolní	CL 95% horní	Min. titr	Max. titr
1	Pre	59	0	0,0	0			0	0
	PI (m1)	53	46	86,8	12	9	8	1	410
	PI (m2)	53	50	94,3	18	13	26	1	140
	PII (m3)	53	53	100,0	2092	1356	3227	43	60 000
	PII (m4)	39	39	100,0	1613	1074	2423	40	19 620
	PII (m6)	25	25	100,0	890	582	1363	42	3900
2	Pre	59	0	0,0	0			0	0
	PI (m1)	53	31	58,5	17	10	32	1	1000
	PI (m2)	53	35	66,0	9	6	16	1	860
	PII (m3)	53	35	100,0	215	128	360	1	25 000
	PII (m4)	40	40	100,0	122	74	201	2	2808
	PII (m6)	22	22	100,0	85	50	145	2	900

Tabulka 1 - pokračování

Skupina	Čas podání	N	S+	%	GMT	CL 95% dolní	CL 95% horní	Min. titr	Max. titr
3	Pre	59	0	0,0	0			0	0
	PI (m1)	53	43	81,1	9	6	15	1	720
	PI (m2)	53	44	83,0	7	4	10	1	1040
	PII (m3)	53	53	100,0	527	332	838	3	10 100
	PII (m4)	40	40	100,0	363	225	586	3	5638
	PII (m6)	24	24	100,0	177	99	316	9	2196
4	Pre	59	0	0,0	0			0	0
	PI (m1)	50	30	60,0	11	6	19	1	290
	PI (m2)	50	34	68,0	4	3	6	1	45
	PII (m3)	50	50	100,0	187	107	329	1	9500
	PII (m4)	42	42	100,0	211	127	350	5	10 584
	PII (m6)	25	25	100,0	226	132	386	20	2595
5	Pre	59	0	0,0	0			0	0
	PI (m1)	52	30	57,7	12	6	25	1	1060
	PI (m2)	52	41	78,8	9	6	14	1	420
	PII (m3)	52	52	100,0	294	168	515	1	18 000
	PII (m4)	41	41	100,0	287	158	521	2	15 764
	PII (m6)	24	22	91,7	353	188	660	10	7701

Tabulka 2

Předběžná analýza distribuce jednotlivých titrů protilátky anti-HBs

Skupina	Čas odběru	N	≥10 n	%	≥100 n	%	≥+1000 N	%
1	Pre	59	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	PI (m1)	53	27	50,9	2	3,8	0	0,0
	PI (m2)	53	37	69,8	2	3,8	0	0,0
	PII (m3)	53	53	100,0	49	92,5	40	75,5
	PII (m4)	39	39	100,0	37	94,9	27	69,2
	PII (m6)	25	25	100,0	24	96,0	15	60,0
2	Pre	59	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	PI (m1)	53	20	37,7	3	5,7	1	1,9
	PI (m2)	53	14	26,4	3	5,7	0	0,0
	PII (m3)	53	50	94,3	38	71,7	11	20,8
	PII (m4)	40	38	95,0	24	60,0	3	7,5
	PII (m6)	22	21	95,5	8	36,4	0	0,0
3	Pre	59	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	PI (m1)	53	17	32,1	7	13,2	0	0,0
	PI (m2)	53	17	32,1	1	1,9	1	1,9
	PII (m3)	53	51	96,2	45	84,9	20	37,7
	PII (m4)	40	39	97,5	34	85,0	10	25,0
	PII (m6)	24	23	95,8	18	75,0	3	12,5

Tabulka 2 - pokračování

Skupina	Čas odběru	N	≥ 10 n	%	≥ 100 n	%	$\geq +1000$ N	%
4	Pre	59	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	PI (m1)	50	17	34,0	3	6,0	0	0,0
	PI (m2)	50	8	16,0	0	0,0	0	0,0
	PII (m3)	50	46	92,0	35	70,0	11	22,0
	PII (m4)	42	40	95,2	30	71,4	5	11,9
	PII (m6)	25	25	100,0	18	72,0	4	16,0
5	Pre	59	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	PI (m1)	52	15	28,8	5	9,6	1	1,9
	PI (m2)	52	20	38,5	3	5,8	0	0,0
	PII (m3)	52	48	92,3	39	75,0	14	26,9
	PII (m4)	41	39	95,1	31	75,6	9	22,0
	PII (m6)	24	22	91,7	18	75,0	5	20,8

5

PATENTOVÉ NÁROKY

- 10 1. Vakcína proti hepatitidě B, **vyznačující se tím**, že obsahuje antigen hepatitidy B ve spojení s 3-O-deacylovaným monofosforyllipidem A a fosforečnanem hlinitým.
2. Vakcína podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že antigen obsahuje povrchový antigen hepatitidy B neboli HBsAg, nebo jeho variantu.
- 15 3. Vakcína podle nároku 2, **vyznačující se tím**, že HBsAg obsahuje S antigen HBsAg o délce 226 aminokyselin.
4. Vakcína podle nároku 3, **vyznačující se tím**, že HBsAg navíc obsahuje sekvenci pre-S.
- 20 5. Vakcína podle nároku 3 nebo 4, **vyznačující se tím**, že HBsAg je složená částice vzorce L*, S, kde L* označuje modifikovaný protein L viru hepatitidy B se sekvencí aminokyselin, obsahující zbytky 12 až 52, následované zbytky 133 až 145 následované zbytky 175 až 400 proteinu L, a S znamená S-protein HBsAg.
- 25 6. Vakcína podle některého z předcházejících nároků, **vyznačující se tím**, že obsahuje jeden nebo více antigenů hepatitidy B a alespoň jednu další složku zvolenou z antigenů hepatitidy A nebo nehepatitidového antigenu, poskytující ochranu proti jednomu nebo více z následujících onemocnění: záškrť, tetanus, černý kašel, Haemophilus influenzae b, neboli Hib, dětská obrna a meningitida A, B nebo C.
- 30 7. Vakcína podle nároku 6, **vyznačující se tím**, že je zvolena z kombinace DTP, neboli záškrť - tetanus - černý kašel, - HBsAg; kombinace Hib - HBsAg, kombinace DTP - Hib - HBsAg a kombinace IPV, neboli inaktivovaná vakcína proti dětské obrně, - DTP - Hib - HBsAg.
- 35 8. Vakcína podle nároku 7, **vyznačující se tím**, že navíc obsahuje antigen hepatitidy A.
- 40 9. Vakcína podle některého z předcházejících nároků, **vyznačující se tím**, že 3-O-deacylovaný monofosforyllipid A je přítomen v rozmezí 10 µg až 100 µg na dávku.

10. Vakcína podle některého z předcházejících nároků pro použití v lékařství.

5 11. Způsob výroby vakcíny podle některého z nároků 2 až 9, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že zahrnuje následující kroky: provede se absorpce povrchového antigenu hepatitidy B na fosforečnan hlinitý, a potom se přidá 3-O-deacylovaný monofosforyllipid A.

10

Konec dokumentu
