



**URZĄD  
PATENTOWY  
PRL**

# OPIS PATENTOWY

**57 031**

Patent dodatkowy  
do patentu \_\_\_\_\_

Zgłoszono: 23.VIII.1966 (P 116 190)

Pierwszeństwo: 03.IX.1965 Stany  
Zjednoczone  
Ameryki

Opublikowano: 28.III.1969

Kl. 30 h, 6

MKP C 12 k 5/00

UKD

Właściciel patentu: Merck et Co., Inc., Rahway (Stany Zjednoczone Ameryki)

## Sposób wytwarzania szczepionki mieszanej przeciw odrze i ospie

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania szczepionki mieszanej przeciw odrze i ospie o wysokiej trwałości.

Zarówno odra (Rubeola) jak i ospa z osobna, stanowią szczególnie ważny problem zdrowotny u większości narodów świata. Opracowano bardzo skuteczne szczepionki przeciw każdej z tych chorób, lecz zwykle szczepionki te stosuje się osobno.

Znany jest również sposób stosowania zmieszanej szczepionki przeciw odrze i ospie przy użyciu aparatu do szczepień masowych. Jednakże w tym przypadku mieszankę szczepionek w postaci ciekłej sporządza się bezpośrednio przed serią wstrzykiwań. Oczywistym jest, że zagadnienie jednoczesnego podawania obu szczepionek w postaci mieszanki ma ogromne znaczenie, zwłaszcza w przypadku nierozwiniętych krajów, w których możliwości wykonywania szczepień ochronnych są ograniczone.

Przedmiotem niniejszego wynalazku jest otrzymywanie mieszanki szczepionek przeciw odrze i ospie w postaci wysuszonej. Szczepionka w takiej postaci wykazuje niewątpliwe zalety w posługiwaniu się nią w warunkach polowych, zwłaszcza dzięki zmniejszeniu do minimum możliwości błędów w manipulacjach i wprowadzenia zanieczyszczeń. Stwierdzono bowiem, że wysuszenie obu tych składników w postaci mieszanki jest technicznie wykonalne i nie zmniejsza w zna-

2

cznym stopniu działania uodporniającego każdego ze składników.

Sposób według wynalazku polega na tym, że zmieszane ze sobą znane szczepionki zawierające żywe wirusy odrzy i ospy, poddaje się liofilizacji. Liofilizacji poddaje się mieszaninę umieszczoną w zbiorniczkach jednostkowych.

Wirusem odrzy przydatnym w sposobie według wynalazku może być każdy materiał szczepionkowy odpowiedni dla ludzi, na przykład szczepionka Endersa o poziomie B oparta na osłabionych żywych wirusach odrzy rozmnażanych w hodowlach tkankowych z zarodka kurczęcia. Taką szczepionkę dostępną w handlu, wytwarza firma Merck and Co., Inc. pod nazwą „Rubeovax”. Inną odpowiednią szczepionką przeciw odrze jest szczepionka oparta na osłabionych żywych wirusach ze szczepu Schwartz również dostępna w handlu. Szczepionka przydatna w sposobie według wynalazku powinna posiadać takie działanie zakaźne, aby jedna dawka produktu końcowego wstrzykiwana człowiekowi, zawierała co najmniej 1000 jednostek DZHT<sub>50</sub> (dawka zakażająca hodowlą tkankową w 50%) osłabionych żywych wirusów odrzy.

Zamiast handlowej szczepionki przeciw odrze można również użyć szczepionkę sporządzoną metodami konwencjonalnymi. W typowym procesie wytwarzania stosuje się wirus rozmnażany w preparatach tkankowych z zarodka kurczęcia. Kultury tkankowe hoduje się na sztucznej pożywce, ta-

kiej jak pożywka „Medium 199” zawierającej osocze z krwi wołu i stosowne antybiotyki. W celu zaszczepienia hodowli tkankowych stosuje się czystą kulturę wirusa odry szczepu Edmonstona lub inną o udowodnionej nieobecności obcych wirusów. Wirusy zebrane z hodowli tkankowych klaruje się drogą filtracji, w celu uwolnienia od resztek obcych tkanek, a następnie poddaje się badaniom zgodnie z przepisami.

Szczepionką ospową może być każda szczepionka używana jako odpowiednia do stosowania u ludzi. Można ją wyhodować na jałowce, w zarodkach kurcząt, w hodowlach tkankowych z zarodka kurcząt lub innej odpowiedniej tkanki, albo inną stosowną metodą.

Najczęściej szczepionkę ospową stanowi żywy wirus krowianki otrzymany z pęcherzyków ospowych ektodermy jałowki (lub innego odpowiedniego zwierzęcia) w okresie kulminacyjnym tworzenia pęcherzy, wywołanego przez sztuczne zakażenie zwierzęcia stosownym preparatem wirusa krowianki. Pęcherzyki zbiera się z jałowki lub innego zwierzęcia i w postaci miazgi lub „limfy” poddaje badaniu zgodnie z przepisami. Następnie miazgę poddaje się zabiegom, w wyniku których usuwa się obce białka i w znacznym stopniu obniża, albo całkowicie usuwa zanieczyszczenie bakteriami i grzybkami. Z kolei poddaje się ją badaniom w celu określenia jej nieszkodliwości, jałowości i aktywności.

Do obu szczepionek dodaje się stosowny środek utrwalający w celu zabezpieczenia przed utratą aktywności lub zmniejszenia tej utraty do minimum, na skutek suszenia. Końcowy produkt może zawierać również siarczan neomycyny lub inny odpowiedni antybiotyk albo środek konserwujący.

Mieszanie szczepionek przeprowadza się w warunkach aseptycznych, po czym mieszaninę tę standaryzuje się w taki sposób, aby objętość dawkowa przeznaczona dla ludzi zawierała co najmniej  $10^3$  DZHT<sub>50</sub> wirusa odry oraz około  $10^5$  ITP (jednostek tworzenia plamek) na 0,1 ml wirusa krowianki. Miano wirusa oznaczone metodą plamkową zwykle jest równe mianu uzyskanemu przez ocenę efektu cytopatycznego (DZHT<sub>50</sub>). Ilości te wywołują produkcję przeciwciał, przeciw obu wirusom w zasadzie u wszystkich osób nieuodpornionych. Również, w zasadzie u wszystkich osob-

ników dają dodatni odczyn krowiankowy z utworzeniem blizny.

Mieszana szczepionkę umieszcza się w szklanych zbiorniczkach, zamraża do temperatury  $-60^{\circ}\text{C}$  i następnie wysusza za pomocą liofilizacji.

Mieszane szczepionki otrzymane sposobem według wynalazku można stosować do wstrzykiwania ludziom za pomocą aparatu do szczepień masowych przy użyciu głowicy skośnej albo głowicy pionowej. Można również dokonywać wstrzykiwań śródskórnych albo podskórnych za pomocą strzykawki do wstrzykiwań podskórnych. Głowica skośna aparatu do szczepień masowych umożliwia wstrzyknięcie 0,1 ml mieszanej szczepionki śródskórnie. Natomiast głowica pionowa, jeżeli jest wyposażona w nasadkę stwarzającą odpowiednią odległość pomiędzy dyszą i skórą, umożliwia wprowadzenie 0,1 ml mieszanej szczepionki śródskórnie, albo 0,4 ml tej szczepionki w tkanki położone głębiej. Użycie głowicy bez nasadki dystansującej powoduje, że praktycznie biorąc, całą szczepionkę wprowadza się w tkankę podskórną. Nastawiając odpowiednio aparat można regulować objętość dawki.

Poniższe przykłady ilustrują sporządzanie serii mieszanych szczepionek sposobem według wynalazku.

Przykład I. Użyto szczepionkę przeciw odrze o początkowym mianie  $10^{3,4}$  DZHT<sub>50</sub>/0,1 ml oraz krowiankę o wyliczonym mianie  $10^{8,4}$  ITP/0,1 ml. Szczepionkę ospową zmieszano ze szczepionką przeciw odrze w stosunku 1 część : 59 części.

Mieszana szczepionkę rozlewano w porcjach po 11 ml, zamrożono do  $-60^{\circ}\text{C}$  i wysuszono za pomocą liofilizacji. W celu użycia lub do badań, buteleczki uzupełniano wodą destylowaną w ilości 11 ml.

W próbie sprawdzającej uzyskano następujące wyniki:

krowianka (próba plamkowa)  $10^{5,6}$  / 0,1 ml  
krowianka (próba próbówkowa)  $10^{5,4}$  DZHT<sub>50</sub>/0,1 ml  
odra  $10^{2,9}$  DZHT<sub>50</sub>/0,1 ml.

Przykład II—V. Postępując w sposób opisany w przykl. I szczepionkę ospową zmieszano ze szczepionką przeciw odrze w podanych stosunkach i w rezultacie sprawdzenia mieszanej szczepionki uzyskano następujące wyniki:

| Przykład | Stosunek szczepionka ospowa: szczepionka przeciw odrze (części) | Stan                | Szczepionka ospowa         |                          | Szczepionka przeciw odrze DZHT <sub>50</sub> /0,1 ml |
|----------|-----------------------------------------------------------------|---------------------|----------------------------|--------------------------|------------------------------------------------------|
|          |                                                                 |                     | DZHT <sub>50</sub> /0,1 ml | ITP/0,1 ml               |                                                      |
| II       | 1 : 9                                                           | zamrożony wysuszony | $10^{5,6}$<br>$10^{5,6}$   | $10^{5,9}$<br>$10^{5,9}$ | $10^{2,9}$                                           |
| III      | 0,1 : 9,9                                                       | zamrożony wysuszony | $10^{4,7}$<br>$10^{4,6}$   | $10^{5,1}$<br>$10^{5,1}$ | $10^{2,8}$                                           |
| IV       | 0,01 : 9,99                                                     | zamrożony wysuszony | $10^{3,6}$<br>$10^{3,8}$   | $10^{3,8}$<br>$10^{3,8}$ | $10^{2,6}$                                           |
| V        | 0,001 : 9,999                                                   | zamrożony wysuszony | $10^{2,6}$<br>$10^{2,4}$   | $10^{2,9}$<br>$10^{3,0}$ | $10^{2,9}$                                           |

Przykład VI. Mieszaninę sporządzono w sposób identyczny jak w przykładzie I z tym, że użyto szczepionki ospowej i przeciw odrze z innej partii. Wyniki zawiera poniższe zestawienie.

| Wirus           | Wynik próby                |                   |
|-----------------|----------------------------|-------------------|
|                 | DZHT <sub>50</sub> /0,1 ml | ITP/0,1 ml        |
| ospa, zamrożony | 10 <sup>4,7</sup>          | 10 <sup>5,2</sup> |
| ospa, wysuszony | 10 <sup>4,6</sup>          | 10 <sup>5,1</sup> |
| odra            | 10 <sup>2,7</sup>          |                   |

Wszystkie podatne dzieci zaszczepione mieszaną szczepionką według przykładu I uzyskały dodatni odczyn krowiankowy i wytworzyły hamujące hemaglutynację przeciwciała przeciw wirusowi krowianki oraz uzyskały odporność na ospę jak to wykazała reakcja na szczepionkę ospową zastosowaną w późniejszym terminie w zwykły sposób, metodą wielokrotnych nakłuć.

Wszystkie dzieci wykazały reakcję serologiczną na szczepionkę przeciw odrze produkując przeciwciała na poziomach miana zbliżonych do stanu gdy szczepionkę przeciw odrze stosuje się osobno.

Powyższe przykłady dowodzą, że mieszaniny dwóch szczepionek zawierających żywy wirus są zgodne, trwałe i pozwalają uzyskać suchy produkt w wysokim stopniu skuteczny dla uodparniania ludzi.

#### Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania szczepionki mieszanej przeciw odrze i ospie przez zmieszanie szczepionek, zawierających żywe wirusy odry i ospy, **znamienny tym**, że mieszaninę szczepionek poddaje się liofilizacji.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że liofilizacji poddaje się mieszaninę zawierającą wirusy zmieszane ze sobą w stosunku co najmniej 10<sup>3</sup> jednostek DZHT<sub>50</sub> wirusa odry z 10<sup>5</sup> ITP na 0,1 ml wirusa krowianki.