

616.988.25-022:576.895.421:616.9-084.47

TOLERANCE A IMUNOGENICITA NOVÉ VAKCÍNY PROTI KLÍŠŤOVÉ ENCEFALITIDĚ ENCEPUR (BEHRINGWERKE) A DYNAMIKA PROTILÁTKOVÉ ODPOVĚDI V OBDOBÍ PĚTI LET PO VAKCINACI

RNDr. Karel Krivanec, MUDr. Eva Tomková, MUDr. Michael Hedenström

Vojenský zdravotní ústav, České Budějovice

(reditel: pplk. MUDr. Peter Gál)

Parazitologický ústav Akademie věd ČR, České Budějovice

(reditel: RNDr. Jan Prokopič, DrSc.)

Klinische Forschung Immunologie, Behringwerke AG, Marburg a.L.

Úvod

Klíšťová encefalitida (KE) je endemická v mnoha zemích Evropy. Ročně je v Evropě evidováno několik tisíc případů tohoto onemocnění, které je nejčastěji přenášeno klíštětem *Ixodes ricinus*. Tento virový kmen byl popsán jako západní subtyp KE.

Klinický obraz KE je bifázický. Může se projevat od chřipkového onemocnění (20-30 % případů) až po meningitidu, meningoencefalitidu nebo meningomyelitidu (okolo 10 % infikovaných osob). Trvalé následky se uvádějí asi u 7 % pacientů a fatální příhody jsou popisovány až u 2 % nemocných. Okolo 60-70 % infikovaných osob však prodělá inaparentní onemocnění, které se projeví latentní imunitou proti KE.

První humánní nepurifikované vakcíny proti KE byly připraveny z formolem inaktivovaného viru pomnoženého na myších mozcích. V sedmdesátých letech byla připravena první purifikovaná vakcína proti KE (Kunz a spol., 1980), která byla vyzkoušena v Rakousku, Německu a Švýcarsku a posléze aplikována v mnohamilionových dávkách v různých zemích Evropy. Protože jsou dostatečně známy i některé vedlejší účinky této vakcíny, trvají stále i diskuse o rizicích a prospěchu vakcinace proti KE.

V této studii informujeme o nové vysoce purifikované vakcíně proti KE testované ve II. a III. fázi klinických zkoušek i na skupině dobrovolníků z jižních Čech. Vakcína byla schválena k prodeji v Německu pod ochrannou známkou ENCEPUR a od roku 1995 bude uvedena na trh i v České republice.

Metodika

Vakcína byla připravena z virového kmene K 23, který byl pomnožen na primárních kuřecích fibroblastech, inaktivován formalínem, purifikován zonální ultracentrifugací a koncentrován v hustotním gradientu. Očkovací dávka obsahuje 1 mg hydroxidu hlinitého jako adjuvans, avšak nebyly použity žádné další prezervační složky na bázi rtuti. Vakcína obsahuje zvýšenou koncentraci virových proteinů (Klockmann a spol., 1989). V I. fázi testování byla vakcína ověřena na bílých myších, které byly po imunizaci infikovány

různými kmeny VKE, bez uhynutí pokusných zvířat (Klockmann a spol., 1991).

Ve II. fázi klinických zkoušek bylo testováno v mezinárodním pokusu 379 zdravých dospělých dobrovolníků v 11 očkovacích střediscích a byla testována různá denzita antigenu ve vakcíně. Ve středisku v Českých Budějovicích se zúčastnilo testování vakcíny 72 osob.

Pro III. fázi klinických zkoušek, které se zúčastnilo 1018 probandů, včetně dětí, bylo ve středisku České Budějovice 225 dobrovolníků (koncentrace antigenu v 1 dávce vakcíny činila 1,5 mikrogramu).

Při očkování byla testována dvě vakcinační schémata. Konvenční, s aplikací vakcíny 0,28 a 300 dní a zkrácené schéma - 0,7 a 21 dní. Vakcína byla aplikována intramuskulárně do musculus deltoides. Imunogenicitu byla sledována u dvou skupin probandů - dětí do 15 let a dospělých. V pokusu bylo 49 % mužů a 51 % žen. Celkem bylo 68,2 % subjektů sledování mladších 30 let. Nejmladší dobrovolník byl ve stáří 1 rok a nejstaršímu bylo 73 let. Poměr probandů s konvenčním a zkráceným očkovacím schématem byl 2:1.

U probandů byla z důvodů sledování tolerance vakcíny pravidelně měřena teplota v axilách a v rozpětí 37,5-38 °C byla hodnocena jako mírně zvýšená, v rozpětí 38,1-39,0 °C jako střední a nad 39 °C jako vysoká teplota.

Vzorky krve byly odebrány u obou očkovacích schémat v rozpětí 0, 28, 42, 180, 300, 314, 494, 674, 854, 1034, 1214, 1394 a 1574 dní. Séra byla testována metodou ELISA na přítomnost protilátek proti KE a byla sledována sérokonverze, která byla určena titrem 1:200 a větším.

Pro vyhodnocení délky trvání ochrany očkovací látkou proti onemocnění KE byly použity podmínky pro odhad metodou Kaplan-Meier.

Průměrné trvání ochrany bylo kalkulováno ze středu hodnot, kdy se naposled ukázal titr větší nebo roven 1:200 a když poprvé poklesl pod úroveň 1:200. Hranice ochranného ELISA-titru 1:200 byla zvolena na základě předchozích zkušeností ze sérokonverzí.

V perzistenční analýze bylo zahrnuto 754 dobrovolníků, z nichž bylo 510 vakcinováno konvenčním způsobem a 244 jeho zkrácenou verzí. Při rozdělení podle pohlaví bylo 48,8 % mužů a 51,2 % žen.

Výsledky a diskuse

Výsledky ověřování tolerance vakcíny, které jsme zjistili u našich probandů, jsou v tabulce 1. Vakcína vykazala dobrou toleranci, avšak výskyt teplot u dětí byl v 27,3 % případů oproti 11,8 % případů u dospělých. U dospělých byly jiné vedlejší účinky pozorovány po první vakcinaci u 29,5 % osob, po druhé dávce u 7,9 % a po třetí vakcinaci u 6,9 % osob. U dětí byly jiné vedlejší účinky po první dávce v 11,0 % případů, po druhé vakcinaci mělo obtíže 0,4 % a po třetí vakcíně 1,3 % dětí.

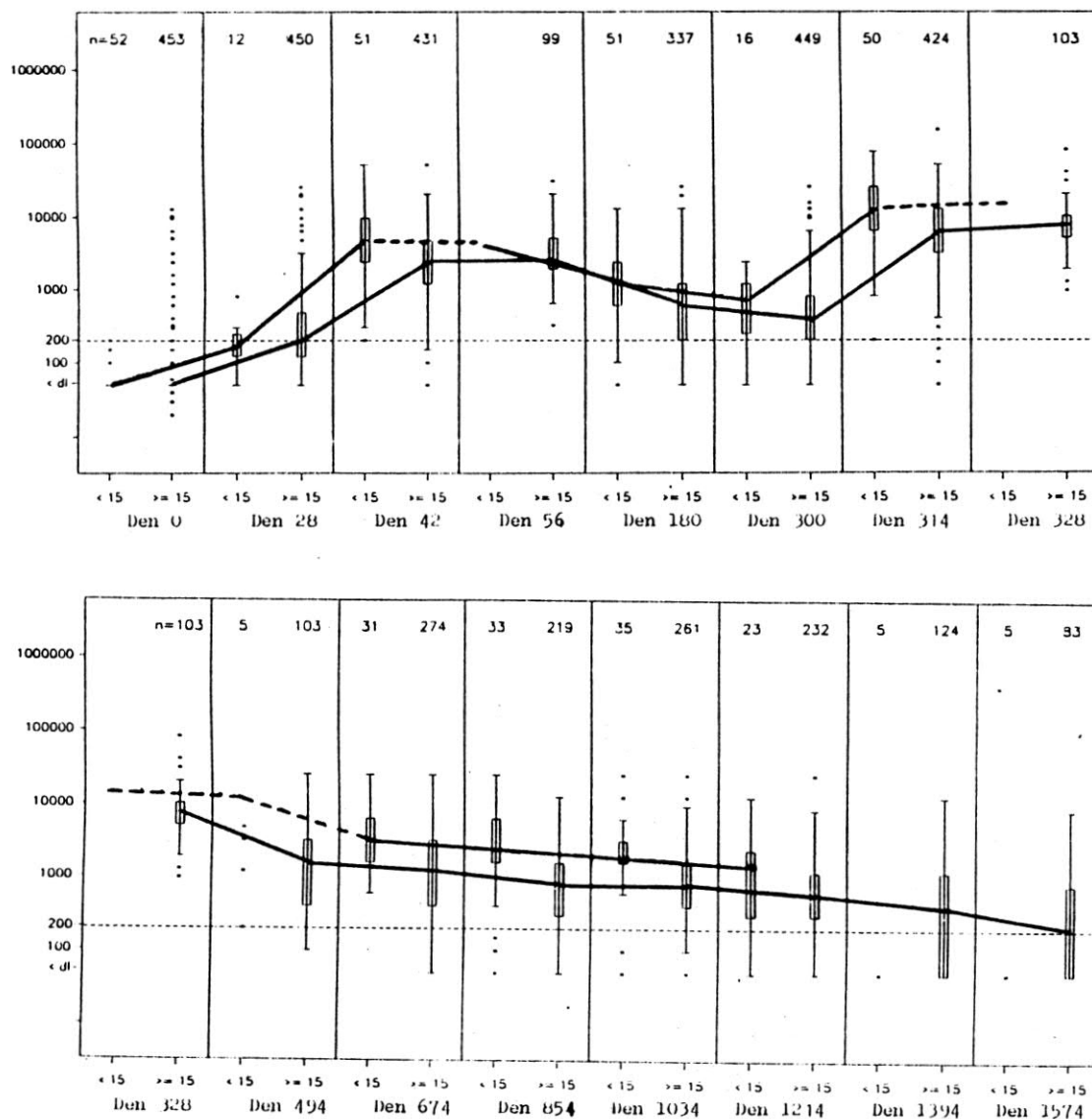
Při sledování dynamiky tvorby protilátek byl v konvenčním schématu po druhé vakcinaci u dětí geometrický průměr titrů 1:5500 a u dospělých byla tato hodnota 1:2000. V den 300, kdy byla aplikována třetí dávka, byl geometrický průměr titrů u dětí 1:650, resp. 1:400 u dospělých. Po třetí vakcíně došlo po

14 dnech k zvýšení geometrického průměru titru u dětí na 1:10 500 a 1:4900 u dospělých, tedy více než dvojnásobně vyšší hodnoty u dětí do 15 let (graf 1).

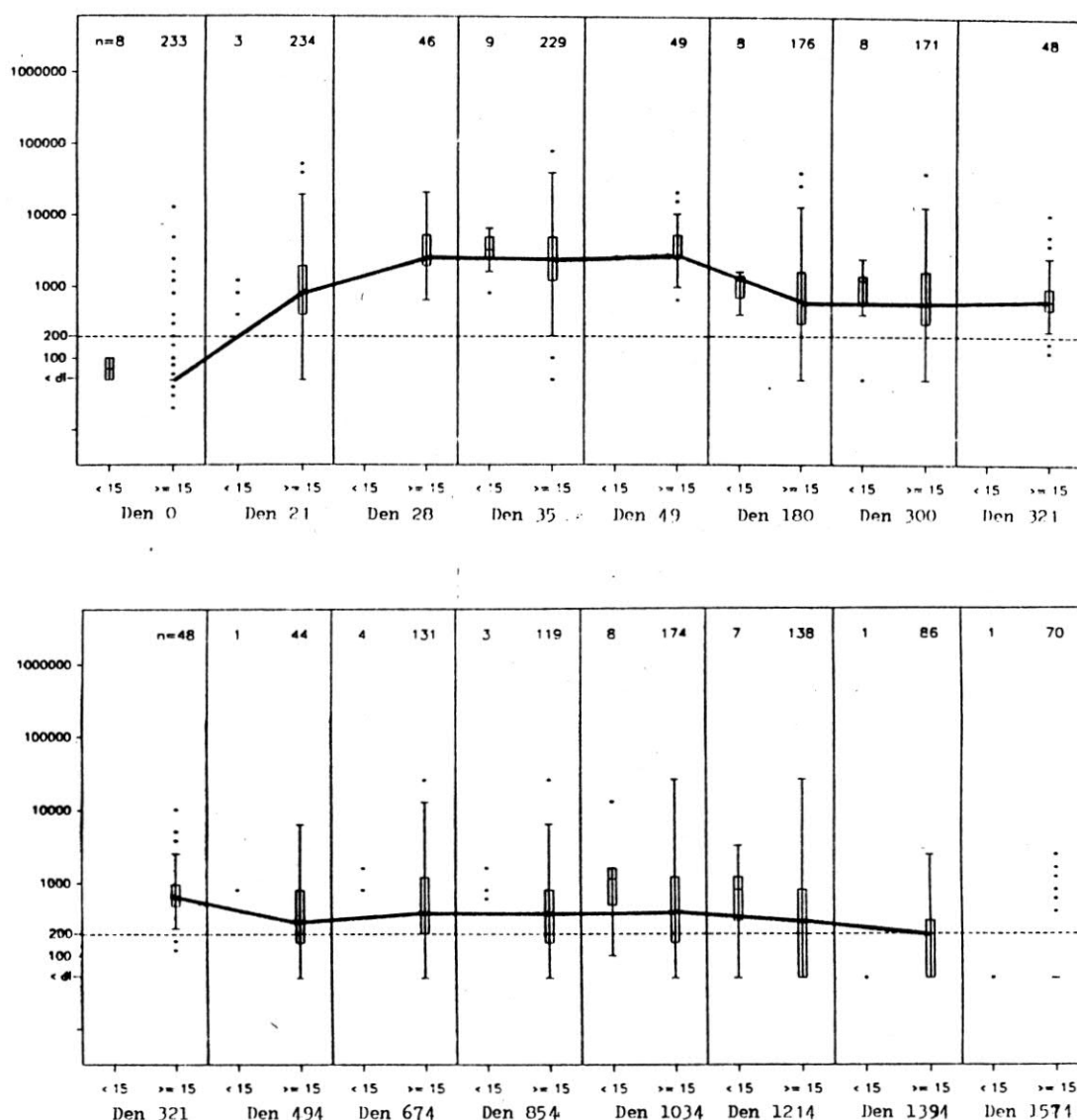
Tabulka 1

Přehled zdravotních komplikací u II. a III. fáze klinických zkoušek vakcíny ENCEPUR - středisko České Budějovice

Očkovací schéma	Počet probandů	Zvýšená teplota	Lokální zarudnutí	Bolest hlavy	Únava
Krátké (0, 7, 21)	100 (33,7 %)	17 (17 %)	9 (9 %)	0	3 (3 %)
Dlouhé (0, 21, 300)	197 (66,3 %)	25 (12,7 %)	8 (4,1 %)	7 (3,6 %)	9 (4,6 %)
Celkem	297 (100 %)	42 (14,1 %)	17 (5,7 %)	7 (2,4 %)	12 (4,0 %)



Gráf 1 Dynamika tvorby protilátek a jejich perzistence po očkování Encepurem - konvenční očkovací schéma



Graf 2 Dynamika tvorby protilátek a jejich perzistence po očkování Encepurem - zkrácené schéma

Ve zkráceném očkovacím schématu byl geometrický průměr titru u dospělých při aplikaci třetí vakcíny (v den 21) 1:600 a za další 2 týdny (den 35) byl zjištěn u dětí geometrický průměr titru 1:3200 a u dospělých 1:2000. V den 300 bylo možno pozorovat snížení těchto hodnot asi o 600 jednotek u obou skupin. Zvýšení geometrického průměru titru bylo i zde u dětí patrné, avšak nebylo dvojnásobné jako v konvenčním schématu (graf 2).

Sérokonverze byla pozorována u konvenčního očkovacího schématu v den 42 u 98,7 % dětí a u 96,9 % dospělých. Dva týdny po třetí vakcinaci (den 314) bylo 100 % dětí a 98,6 % dospělých hodnoceno jako séropozitivní. Ve zkráceném schématu bylo ve dni 35 u skupiny dětí 100 % séropozitivních a u skupiny dospělých 98,6 % séropozitivních a v den 300 to bylo 96,6 % dětí a 85,9 % dospělých.

Dále bylo přistoupeno ke sledování perzistence anti-KE protilátek po vakcinaci ENCEPUREM v konvenčním a krátkém očkovacím schématu. Délka trvání imunity je po konvenčním očkování udávána u srovnatelných vakcín do 3 let po posledním očkování, ale délka trvání ochrany u krátkého schématu nebyla dosud známa.

Protektivní účinek vakcíny aplikované v konvenčním schématu přetrvával mnohem déle než ve zkráceném schématu. U dospělých ve zkráceném schématu byla zjištěna 90% pravděpodobnost protekce na úrovni 219 dní po třetí vakcinaci a v konvenčním schématu byla tato 90% pravděpodobnost u dospělých na úrovni 831 dní po třetí vakcinaci, tj. 1131 dnů po první vakcinaci.

Ve zkráceném schématu byla nejméně 80% pravděpodobnost ochrany při 684 dnech po třetí vakcinaci

a v konvenčním schématu byla 80% pravděpodobnost této ochrany při 1157. dnu po třetí vakcinaci. Na základě pravděpodobnosti ochrany se ukázalo, že 86 % dospělých bylo chráněno i po 3 letech po poslední vakcinaci v konvenčním schématu. Ve zkráceném schématu (ELISA - titr 1:200) po 3 letech okolo 70 % dospělých. V případě tohoto očkovacího schématu se doporučuje aplikovat ještě čtvrtou dávku po 12 měsících od začátku očkování.

Závěr

Očkovací látka ENCEPUR se ukázala jako potentní vakcína proti klišťové encefalitidě. Počet a povaha vedlejších účinků vakcíny je v korelaci s obdobnými komerčně vyráběnými preparáty (Duniewicz a spol., 1979). ENCEPUR může být doporučen pro profylaktickou vakcinaci proti klišťové encefalitidě pro všechny věkové kategorie. Krátké imunizační schéma, které bylo prvně ověřováno u tohoto typu vakcíny pro aplikaci v případě neodkladné cesty do endemických oblastí, vykazala plnou protekci po dobu 300 dní.

Literatura

1. KLOCKMANN, U. et al.: Preclinical investigations of the safety, immunogenicity and efficacy of a purified, inactivated tick-borne encephalitis vaccine. *Journal of Biological Standardization*, 17, 1989, s. 331-342.
2. KLOCKMANN, U. et al.: Protection against European isolates of tick-borne encephalitis virus after vaccination with a new tick-borne encephalitis vaccine. *Vaccine*, 9, 1991, s. 210-212.
3. KUNZ, C. - HEINZ, F. X. - HOFMANN, H.: Immunogenicity and reactogenicity of a high purified vaccine against Tick-borne encephalitis. *J. med. Virol.*, 6, 1980, s. 103-109.
4. DUNIEWICZ, M. et al.: Unsere Erfahrungen mit der Impfung gegen mitteleuropäische Zeckencephalitis. "Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa". (ed. W. Sixl): 45-51. Graz - Leggan, 1979.

Klíčová slova: Klišťová encefalitida; Vakcinace; ENCEPUR; Tolerance a imunogenita vakcíny; Perzistence protilátek.

Do redakce došlo 1. 11. 1994