(12) **PATENT**

(19) NO (11) **319394** (13) **B1**

NORGE (51) Int Cl[7] A 61 K 39/39, 39/29, 39/12

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	19973873	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	1996.02.15 PCT/EP96/00681
(22)	Inng.dag	1997.08.22	(85)	Videreføringsdag	1997.08.22
(24)	Løpedag	1996.02.15	(30)	Prioritet	1995.02.25, GB, 9503863
(41)	Alm.tilgj	1997.08.22			
(45)	Meddelt	2005.08.08			

(73) Innehaver GlaxoSmithKline Biologicals SA , Rue de l'Institut 89, 1330 RIXENSART, BE

(72) Oppfinner Pierre Hauser, , Rixensart, BE
Pierre Michel Desmons, c/o GlaxoSmithKline Biologicals SA,
Rue de l'Institut 89, 1330 RIXENSART, BE
Nathalie Marie-Josephe Claude Garcon, , Rixensart, BE

(74) Fullmektig Ellen Holm - Bryns Zacco AS, Postboks 765 Sentrum, 0106 Oslo, NO

(54) Benevnelse **Hepatitt B vaksine**

(56) Anførte publikasjoner
EP-B1-633784
EP-B1-642355

(57) Sammendrag

Det er beskrevet en ny vaksineformulering omfattende en heptatt B komponent, spesielt hepatitt B overflateantigen, i kombinasjon med aluminiumfosfat og 3 de-O-acylert monofosforyllipid A.

Foreliggende oppfinnelse vedrører nye vaksineformuleringer. Foreliggende oppfinnelse vedrører spesielt nye formulering for behandling av hepatittinfeksjoner og kombinasjonsvaksineformuleringer inkludert en hepatitt B vaksinekompnent.

Viral hepatitt, forårsaket av A, B, C, D og E hepatittvirus, er en meget vanlig virussykdom særlig via B og C virusene er den ansvarlig for mange tilfeller av leverkreft. Utvikling av effektive vaksiner er kritisk og til tross for betydelig vellykkethet, fortsatt et pågående arbeid. En overskit over moderne hepatittvaksiner, inkludert et antall nøkkelreferanser, kan finnes i Lancet, May 12, 1990 på side 1142 ff (Prof. A.L.W.F. Eddleston). Se også "Viral Hepatitis and Liver Disease" (Vyas, B.N., Dienstag, J.L. og Hoofnagle, J.D., eds, Grune and Stratton, Inc. (1984) og "Viral Hepatitis and Liver Disease" (Proceedings of the 1990 International Symposium, eds F.B. Hollinger, S.M. Lemon and H. Margolis, published by Williams and Wilkins).

Som anvent heri blir uttrykket hepatitt B antigen anvendt for å referere til et hvilket som helst antigenisk materiale avledet fra et hepatitt B virus som kan bli anvendt for å indusere immunitet for viruset i mennesker.

Infeksjon med hepatitt B virus (HBV) er et omfattende problem, men vaksiner som kan bli anvendt for masseimmunisering er nå tilgjengelig, f.eks produktet "Engerix-B" (SmithKline Beecham plc) som blir oppnådd ved genetiske omkonstrueringsteknikker.

Fremstilling av hepatitt B overflateantigen (HBsAg) er godt dokumentert. Se f.eks Harford et al i Develop. Biol. Standard 54 side 125 (1983), Gregg et al i Biotechnology, 5 side 479 (1987), EP-A-0.226.846, EP-A-0.299.108 og referansene deri.

Som anvendt heri innbefatter uttrykket hepatitt B overflateantigen eller HBsAg et hvilket som helst HBsAg antigen eller fragment derav som utviser antigenisiteten til HBV overflateantigenet. Det er å bemerke at i tillegg til 226 aminosyresekvensen til HBsAg antigenet (se Tiollais et al, Nature, 317, 489 (1985) og referansene deri) kan HBsAg som beskrevet heri om ønskelig inneholde hele eller deler av en pre-S sekvens som beskrevet i ovennevnte referanser og i EP-A-0.278.940. HBsAg kan videre omfatte et polypeptid omfattende en aminosyresekvens omfattende residiene 12-52 etterfulgt av residiene 133-145 etterfulgt av residiene 175-400 av L-proteinet til HBsAg i forhold til den åpne leserammen på et hepatitt B virus av ad serotype (dette polypeptidet blir referert til som L*, se EP 0.414.374) HBsAg innenfor rammen av oppfinnelsen kan også innbeafatte preS1-preS2-S polypeptidet beskrevet i EP 0 198 474 (Endotronics) eller

analoger derav så som de som er beskrevet i EP 0 304 578 (Mc Cormick and Jones). HBsAg beskrevet heri kan også referere til mutanter, f.eks "escape"-mutanten beskrevet i WO 91/14703 eller europeisk patentsøknad publikasjons nr 0.511.855 A1, spesielt HBsAg hvor aminsyresubstitusjonen i posisjon 145 er til arginin fra glysin.

Normalt vil HBsAg være i partikkelform. Partiklene kan omfatte f.eks S protein alene eller kan være kompositttpartikler, f.eks (L*,S) hvor L* er som definert ovenfor og S angir S proteinet til HBsAg. Nevnte partikkel er fordelaktig i den formen som den blir uttrykt i gjær.

Eksperimentelle og kommersielt tilgjengelige hepatittvaksiner, f.eks Engerix-B, gir meget gode resultater, men det er et akseptert faktum at en optimal vaksine må stimulere, ikke bare nøytraliserende antistoff, men også stimulere så effektivt som mulig den cellulære immuniteten som blir formidlet gjennom T-cellene. Internasjonal patentsøknad nr WO 93/19780, beskriver kombinasjonsvaksiner med en hepatitt B komponent basert på et hepatitt B overflateantigen, aluminiumhydroksid og 3-de-O-acylert monofosforyl lipid A. En formulering omfattende aluminiumfosfat ble ikke foreslått.

EP-B1-642355, tilsvarende norsk patent NO-B1-309675, beskriver anvendelse av aluminiumfosfat i vaksinesammensetninger omfattende hepatitt B overflateantigen, men det er ikke forslått å anvende 3-O-deacylert monofosforyl lipid A i vaksinen.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en formulering som er opptil fire ganger mer potent enn de som er beskrevet i WO 93/19780.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer følgelig en vaksine som omfatter et hepatitt B antigen sammen med 3-O-deacylert monofosforyl lipid A (forkortet heri til MPL) og aluminiumfosfat.

3-O-deacylert monofosforyl lipid A (eller 3-de-O-acylert monofosforyl lipid A) er tidligere blitt betegnet 3D-MPL eller d3-MPL for å indikere at posisjonen 3 til reduserende endeglukosamin er de-O-acylert. For fremstilling se GB 2.220.211 A. Kjemisk er en blanding av 3-deacylert monofosforyl lipid A med 4, 5 eller 6 acylerte kjeder. Heri er betegnelsen 3D-MPL (eller d3-MPL) forkortet til MPL på grunn av at "MPL" er et registrert varemerke til Ribi Immunochem, Montana som blir anvendt av Ribi for å angi deres 3-O-deacylerte monofosforyl lipid A produkt.

I sammensetningene ifølge foreliggende oppfinnelse blir små MPL partikler anvendt. Liten partikkel MPL har en partikkelstørrelse som generelt er mindre enn 120 nm. Slike preparater er beskrevet i internasjonal patentsøknad nr WO 94/21292.

GB 2.220.211A beskriver at endotoksisiteten til tidligere anvendte enterobakterielle lipopolysakkarider (LPS) blir redusert, mens de immunogene egenskapene blir bevart. GB 2.220.211 siterte derimot disse funnene i sammenheng med bakterielle (Gram negative) systemer.

Det ble derimot overraskende oppdaget at vaksinesammensetningene ifølge oppfinnelsen omfatter hepatitt B virale antigener som har spesielt fordelaktige egenskaper som beskrevet heri.

En spesiell fordel er at vaksineformuleringene ifølge oppfinnelsen er meget effektive når det gjelder å indusere beskyttende immunitet, selv med meget lave antigendoser.

De nye vaksineformuleringene muliggjør immunogenisitetsforsterkninger som tilsvarer de tilgjengelige hepatitt B formuleringene etter to doser. Ekvivalente nivåer av antistoffer ble spesielt oppnådd i et humant klinisk forsøk etter to vaksinedoser sammenlignet med tre doser "Engerix-B."

De gir meget god beskyttelse mot primær infeksjon og stimulerer fordelaktig både spesifikke humorale (nøytraliserende antistoffer) og også effektorcellemedierte (DTH) immunresponser.

En ytterligere viktig fordel er at vaksinesammensetningene ifølge oppfinnelsen også kan bli anvendt som terapeutiske vaksiner.

MPL som definert ovenfor vil normalt være tilstede i et område på 10-100 µg, fortrinnsvis 25-50 µg pr dose, idet hepatitt B antigenet vanligvis vil være tilstede i et område på 2-50 µg pr dose og aluminiumfosfat vil være tilstede i området 500 µg (Al 3+) pr dose.

En utførelselsform ifølge oppfinnelsen er HBsAgS antigen (f.eks som i "Engerix-B") blandet sammen med MPL og aluminiumfosfat som beskrevet nedenfor.

En ytterligere spesifikk utførelsesform ifølge oppfinnelsen er HBsAg antigen som (L*,S) partikler, definert ovenfor, blandet sammen med MPL og aluminiumfosfat.

Andre aspekt ifølge oppfinnelsen omfatter vaksinesammensetninger kjennetegnet ved at antigenet omfatter hepatitt B overflateantigen (HBsAg) eller en variant derav.

I en foretrukken utførelsesform er hepatitt B overflateantigenet S antigenet til HBsAg (226 aminosyrer).

I en annen foretrukken utførelsesform omfatter HBsAg i tillegg en pre-S sekvens.

I et annet aspekt ifølge oppfinnelsen er en vaksinesammensetning kjennetegnet ved at HBsAg er kompositpartikkelen med formel (L*,S) hvor L* angir et modifisert L protein av hepatitt B virus som har en aminosyresekvens omfattende residiene 12-52 etterfulgt av residiene 133-145 etterfulgt av residiene 175-400 av L proteinet og S angir S-proteinet til HBsAg.

Oppfinnelsen tilveiebringer i et ytterligere aspekt en vaksineformulering som beskrevet heri for anvendelse i medisinsk terapi, spesielt for anvendelse ved behandling eller profylakse av hepatittvirale infeksjoner. I et foretrukket aspekt omfatter vaksinen ifølge oppfinnelsen en terapeutisk vaksine nyttig for behandling av pågående hepatitt B infeksjoner.

I et annet aspekt inneholder hepatittvaksinesammensetningen ifølge oppfinnelsen andre antigener slik at den er effektiv for behandling eller profylakse av en eller flere andre bakterielle, virale eller fungale infeksjoner.

Hepatittvaksineformuerlingen ifølge en utførelsesform ifølge oppfinnelsen inneholder følgelig minst en annen komponent valgt fra andre hepatittantigener, spesielt hepatitt A antigen, eller ikke-hepatittantigener som er kjent innenfor fagområdet for å tilveiebringe beskyttelse mot en eller flere av de følgende: difteri, tetanus, pertussis, Heamophilus influensa B (Hib) og polio. Antigener mot meningitt A, B eller C kan også bli innbefattet.

Vaksinen ifølge oppfinnelsen innbefatter fortrinnsvis HBsAg som beskrevet ovenfor.

Spesielle kombinasjonsvaksiner innenfor rammen av oppfinnelsen innbefatter en DTP (difteri-tetanus-pertussis) hepatitt B kombinasjonsvaksineformulering, en Hib hepatitt B vaksineformulering, en DTP Hib hepatitt B vaksineformulering og en IPV (inaktivert poliovaksine)-DTP-Hib-hepatitt B vaksineformulering.

Hepatittvaksinen eller ovennevnte kombinasjoner kan fordelaktig innbefatte en komponent som er beskyttende overfor hepatitt A, spesielt den drepte attenuerte stammen avledet fra HM-175 stammen som tilstede i "Havrix".

Egnede komponenter for anvendelse i slike vaksiner er allerede kommersielt tilgjengelige og detaljer kan bli oppnådd fra WHO. For eksempel kan IPV komponenten være Salk inaktivert poliovaksine. Pertussisvaksinen kan omfatte hele celler eller acellulært produkt, formulert med difteri og tetanusantigen så som Infanrix DTPa, som omfatter tre B.pertussis antigener: 69kda, pertussis toxin (inaktivert) og FHA.

I et aspekt kan hepatitt eller kombinasjonsvaksinen ifølge oppfinnelsen være en pediatrisk vaksine.

Vaksinepreparatet er generelt beskrevet i New Trends and Developments in Vaccines, utgitt av Voller et al, University Park Press, Baltimore, Maryland, U.S.A. 1978. Innkapsling i liposomer er f.eks beskrevet av Fullerton, US patent 4.235.877. Konjugasjon av proteiner til makromolekyler er f.eks beskrevet av Likhite, US patent 4.372.945 og Armor et al, US patent 4.474.757.

Mengden av antigen i hver vaksinedose blir valgt som en mengde som induserer en immunbeskyttende respons uten betydelige, negative bivirkninger i vanlige vaksiner. En slik mengde vil variere avhengig av hvilke spesifiekke antigener som blir anvendt. Generelt er det ventet at hver dose vil omfatte 1-1000 µg av totalt antigen, fortrinnsvis 2-200 µg. En optimal mengde for en bestemt vaksine kan bli bestemt utifra standard-studier som innbefatter observasjon av antistofftitere og andre responser i individene. Etter en innledende vaksinering kan individene motta en eller flere boosterdoser, f.eks etter 2 og 6 måneder.

I et aspekt av oppfinnelsen frembringes en vaksinesammensetning kjennetegnet ved at deacylert monofosforyl lipid A er til stede i området 10 µg -100 µg pr dose.

Ved fremstilling av en vaksine ifølge oppfinnelsen som effektivt kan forhindre eller behandle hepatittinfeksjon, blandes hepatittantigen som definert heri med aluminiumfosfat og MPL.

Ved anvendelse av denne metoden blir en eller flere ytterligere komponenter fortrinnsvis blandet sammen med HBsAg for å tilveiebringe en kombinasjonsvaksine. Flere metoder for blanding av komponentene kan bli anvendt. I en fremgangsmåte kan hvert antigen bli separat absorbert på aluminiumfosfat og etter en tidsperiode kan MPL bli tilsatt til hver før tilsetning av blandingsoppløsningen.

Følgende eksempler illustrerer oppfinnelsen og dets fordeler.

Eksempel 1: Hepatitt B vaksineformulering

MPL (3 de-O-acylert monofosforyl lipid A) ble oppnådd fra Ribi Immunochem Research Inc. Aluminiumfosfat ble oppnådd fra Superphos (Danmark).

MPL ble resuspendert i vann for injeksjon i en konsentrasjon som varierer fra 0,2 til 3 mg/ml ved sonikering helt til partiklene når en størrelse på mellom 80 og 200 nm målt ved fotokorrelasjonslysespredning.

1 til 20 µg HBsAg (S-antigen som i "Engerix B") I fosfatbufferoppløsning ved 0,5 til 3 mg/ml) blir adsorbert på 5 til 1000 µg aluminiumfosfat (oppløsning med 3-6 Al^{+3} mg/ml) i en time ved romtemperatur under agitasjon. Blandingen ble lagret ved romtemperatur i 15 dager og deretter opprettholdt ved 4µC før ytterligere bearbeidning. Deretter ble 5 til 200 µg MPL (oppløsning 0,2 til 100 mg/ml) tilsatt til oppløsningen. Volum og osmolaritet ble justert til 500 til 1000 µl med vann for injeksjon og saltvann. Thiomersal (1 % w/v) blir tilsatt opptil en sluttkonsentrasjon på 0,005 % for å tilveiebringe sluttproduktet.

En lignende formulering ble dannet ved anvendelse som HBsAg komponent kompositt (L*,S) antigen som definert ovenfor. I denne formuleringen var det bakteriostatiske midlet 2-fenoksyetanol.

Eksempel 2: Kliniske studier av hepatitt B overflateantigen formulert med 3 deacylert monofosforyl lipid A og aluminiumfosfat

I kliniske tester ble forskjellige hepatitt B overflateantigeninneholdende vaksiner sammenlignet. Følgende grupper er betraktet:

Gruppe 1 HBsAg (20 µg)/MPL (50 mg)/AlPO4 (Al:500 µg)/Thiomersal (50 µg)/ 150 mM NaCl/pH 6,1 i 1 ml formulert som i eksempel 1

Gruppe 2 HBsAg (20 µg)/MPL (50 µg)/Al(OH)3 (A1:100 µg/Thiomersal (50 µg)/ 10 mM fosfatbuffer + 150 mM NaCl/pH 6,8 i 1 ml.

Gruppe 3 HBsAg (20 µg)/MPL (50 µg)/Al(OH)3 (Al: 500 µg)/Thiomersal (50 µg)/ 10 mM fosfatbuffer + 150 mM NaCl/pH 6,8 i 1 ml.

Gruppe 4 Engerixlignende
HBsAg (20 µg)/MPL (0 µg)/Al(OH)3 (Al: 500 µg)/Thiomersal (50 µg)/ 10 mM fosfatbuffer + 150 mM NaCl/pH 6,8 i 1 ml.

Gruppe 5 HBsAg (20 µg)/MPL (0 µg)/AlPO4 (Al: 500 µg)/Thiomersal (50 µg)/ 150 mM NaCl/pH 6,1 i 1 ml.

De frivillige i alder 18 til 40 år ble rekrutert for deltakelse i forsøket. Hver gruppe (omtrent 60 voksne pr gruppe ved dag 0) ble vaksinert intramuskulært i deltoidregionen på dag 0 og 2 måneder senere. En blodprøve ble samlet før den første injeksjonen, 1 og 2 måneder etter den første injeksjonen og 1, 2 og 4 måneder etter den andre injeksjonen. Anti HB antistoffer ble målt ved anvendelse av AUSAB settet (Abbott) og en WHO referanse kalibrert i mlU/ml. Responderene hadde et titer på ≤ 1 ml U/ml. For hvert tidspunkt ble GMT (geometrisk gjennomsnittlig titer) beregnet for serokonverteringene.

Resultater

GMT er gitt i tabell 1 for hver vaksine og tabell 2 angir rangering av antistofftitrene i hver vaksinegruppe.

GMT resultatene (tabell 1) viser klart at etter to vaksinedoser inneholdende Al PO4 + MPL (gruppe 1) blir en mer enn 10 ganger økning av titrene observert etter den andre

dosen sammenlignet med titre oppnådd ved anvendelse av kommersiell "Engerix B" (gruppe 4). Anti HB responsen er også hurtigere og 51 og 70 % av vaksinene har et beskyttende titer (10 ml/U/ml) 1 og 2 måneder etter den første dosen (sammenlignet med 34 og 16 % for Engerix B) (tabell 2). Tilsetning av 3D-MPL til "Engerix B"(gruppe 3) anvendelse av bare AlPO4 (gruppe 5) forbedret anti-HBS responsen noe (sammenlignet med Engerix B) men titrene er fortsatt 4 til 5 ganger lavere enn med Al PO4 + MPL formuleringen. Adsorbsjon av HBsAg i en redusert dose av Al $(OH)_3$ + MPL gir titre som ligner de som blir oppnådd med Engerix B. Sammen angir resultatene at både Al PO4 og MPL er nødvendige for å oppnå en optimal økning av anti HB responsen i vaksiner etter bare 2 doser.

TABELL 1

Serokonversjonsrater (%) og geometrisk gjennomsnittlig anti-HB antistofftiter (GMT) til serokonverterere: preliminær analyse.

Gruppe	Tids-beregning	N	S+	%	GMT	CL 95% lavere	CL 95% øvre	Min titre	Max titre
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	60000
	PII (m4)	39	39	100.0	1613	1074	2423	40	19620
	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	25000
	PII (m4)	40	40	100.0	122	74	201	2	2808
	PII (m6)	22	22	100.0	85	50	145	2	900
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	10100
	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	10584
	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	18000
	PII (m4)	41	41	100.0	287	158	521	2	15764
	PII (m6)	24	22	91.7	353	188	660	10	7701

TABELL 2

Fordeling av individuelle anti-HB antistofftitere preliminær analyse.

Gruppe	Tids-beregning	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
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

Patentkrav

1.
Vaksinesammensetning, karakterisert ved at den omfatter et hepatitt B antigen sammen med 3-O-deacylert monofosforyl lipid A og aluminiumfosfat.

2.
Vaksinesammensetning ifølge krav 1, karakterisert ved at antigenet omfatter hepatitt B overflateantigen (HBsAg) eller en variant derav.

3.
Vaksinesammensetning ifølge krav 2, karakterisert ved at HBsAg omfatter S antigenet til HBsAg (226 aminosyrer).

4.
Vaksinesammensetning ifølge krav 3, karakterisert ved at HBsAg i tillegg omfatter en pre-S sekvens.

5.
Vaksinesammensetning ifølge krav 3 eller 4, karakterisert ved at HBsAg er kompositttpartikkelen med formel (L*,S) hvor L* angir et modifisert L protein av hepatitt B virus som har en aminosyresekvens omfattende residiene 12-52 etterfulgt av residiene 133-145 etterfulgt av residiene 175-400 av L proteinet og S angir S-proteinet til HBsAg.

6.
Vaksinesammensetning ifølge hvilket som helst av de foregående krav, karakterisert ved at den omfatter en eller flere hepatitt antigener og minst en annen komponent valgt fra et av hepatitt A antigen eller et ikke-hepatitt antigen som tilveiebringer beskyttelse overfor en eller flere av følgende: difteri, tetanus, pertussis, Haemophilus influensa b (Hib), polio og meningitidis A, B eller C.

7.
Vaksinesammensetning ifølge krav 6, karakterisert ved at den blir valgt fra en DTP (difteri-tetanus-pertussis) HBsAg kombinasjon, en Hib-HBsAg kombinasjon, en DTP-Hib-HBsAg kombinasjon og en IPV (inaktivert poliovaksine)-DTP-Hib-HBsAg kombinasjon.

8.

Vaksinesammensetning ifølge krav 7, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den i tillegg omfatter et hepatitt A antigen.

9.

Vaksinesammensetning ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, k a r a k t e r i s e r t v e d a t deacylert monofosforyl lipid A er tilstede i området 10 µg -100 µg pr dose.

10.

Vaksinesammensetning som krevd heri, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den er for anvendelse i medisin.