



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **129115** (13) **C2**
(51) МПК (2025.01)

C12N 7/00

A61K 39/02 (2006.01)

A61K 39/085 (2006.01)

A61K 39/13 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

A61K 39/15 (2006.01)

A01N 1/02 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

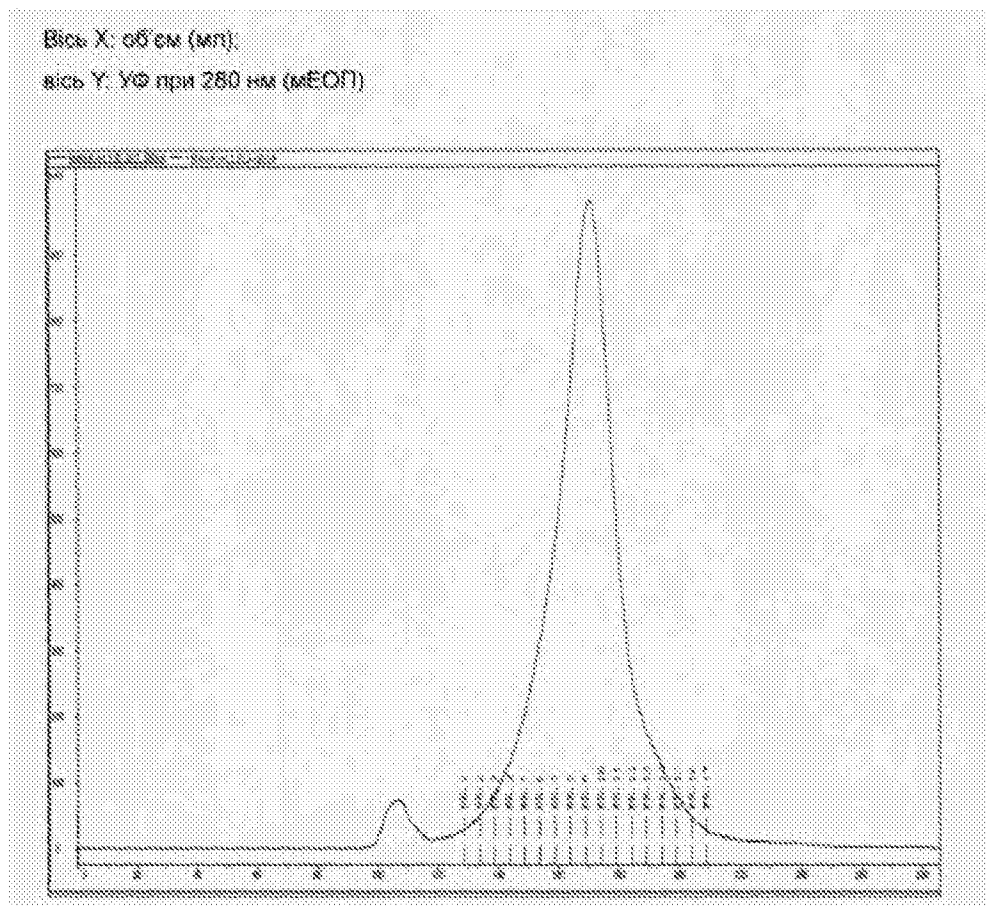
<p>(21) Номер заявки: а 2019 02890</p> <p>(22) Дата подання заявки: 24.08.2017</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 23.01.2025</p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 201621029037</p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 26.08.2016</p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: IN</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 27.04.2020, Бюл.№ 8</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 22.01.2025, Бюл.№ 4</p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: РСТ/IB2017/055100, 24.08.2017</p> <p>(72) Винахідник(и): Дере Раджив Мхаласакант (IN), Пісал Самбхаджи Шанкар (IN), Заде Ягдіш Камаладжи (IN), Сабале Раджендра Нараян (IN), Кадам Равіндра Бапурао (IN), Камбл Абхиджит Санджив (IN), Джианг Баомінг (US), Гласс Роджер (US)</p>	<p>(73) Володілець (володільці): СЕРУМ ІНСТІТЮТ ОФ ІНДІЯ ПРАЙВЕТ ЛІМІТЕД, 212/2, Off Soli Poonawalla Road, Hadapsar, Pune, Maharashtra 411 028, India (IN), СПОЛУЧЕНІ ШТАТИ АМЕРИКИ, ЩО ПРЄДСТАВЛЕНІ ДЕРЖАВНИМ СЕКРЕТАРЕМ, МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я ТА СОЦІАЛЬНИХ СЛУЖБ, The Office of Technology Transfer, National Institutes of Health, 6011 Executive Boulevard, Suite 325, MSC 7660, Bethesda, Maryland, 20892-7660, United States of America (US)</p> <p>(74) Представник: Оцалюк Валентин Михайлович, реєстр. №359</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2012/093406 A2, 12.07.2012 WO 2016/063291 A1, 28.04.2016 WO 2008/028956 A1, 13.03.2008 Does a Monovalent Inactivated Human Rotavirus Vaccine Induce Heterotypic Immunity? Evidence from Animal Studies / Baoming Jiang et al. Human Vaccines and Immunotherapeutics. 2013. Vol. 9, no. 8. P. 1634-1637 Aluminium Hydroxide Potentiates a Protective Th1 Biased Immune Response Against Polio Virus that Allows for Dose Sparing in Mice and Rats / Lars Vibe Andreassen et al. Vaccine. 2015. Vol. 33, no. 15. P. 1873-1879 Inactivated Rotavirus Vaccine Induces Protective Immunity in Gnotobiotic Piglets / Y. Wang et al. Vaccine. 2010. Vol. 28, no. 33. P. 5432-5436 Antigen Sparing with Adjuvanted Inactivated Polio Vaccine Based on Sabin Strains / Janny Westdijk et al. Vaccine. 2013. Vol. 31, no. 9. P. 1298-1304</p>
---	---

(54) КОМБІНОВАНА ВАКЦИНА

UA 129115 C2

(57) Реферат:

Винахід стосується комбінованої вакцини, що містить інактивованій поліовірусний (ІПВ) антиген, вибраний зі штаму Солка або Себіна; інактивованій ротавірусний (ІРВ) антиген; ад'ювант - гідроксид алюмінію. Також винахід стосується способу одержання комбінованої вакцини, способу одержання шестивалентної вакцини та способу одержання семивалентної композиції.



Фиг. 1

Галузь техніки, до якої належить даний винахід:

Даний винахід стосується стабільної комбінованої вакцини (вакцин), що містить суміш антигенів для запобігання та профілактики інфекцій, викликаних ротавірусом, вірусом поліомієліту, *Haemophilus influenzae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium tetani*, *Bordetella pertussis* (цільноклітинний компонент) і вірусом гепатиту В. Зокрема даний винахід відноситься до стабільної полівалентної комбінованої вакцини, що містить значно знижену дозу антигенів Солка ІПВ або Себіна ІПВ (ІПВ) і придатний для ін'єкційного введення інактивованим нагріванням ротавірусний антиген (антигени), одержаний із штамів ротавірусу (CDC-9).

Відомості про попередній рівень техніки:

Поліовірус проникає у нервову систему і може викликати незворотній параліч протягом декількох годин. У світі існує три типи поліовірусу, а саме Тип 1, Тип 2 і Тип 3.

Розповсюдженість поліовірусу була значно знижена за рахунок застосування оральної поліомієлітної вакцини (ОПВ) на основі живих ослаблених штамів поліовірусу Себіна. Однак ОПВ має обмеження для періоду після викорінення захворювання. ОПВ містить циркулюючі вакцинні поліовіруси (сVDPV), які є трансмісійними і можуть стати нейровірулентними (подібно до диких поліовірусів), що призводить до паралітичного поліомієліту, пов'язаного з вакциною. Такі штами потенційно можуть призвести до повторного розповсюдження поліовірусів по усьому світу і звести нанівець досягнення у викоріненні захворювання. Щоб запобігти появі циркулюючих вакцинних поліовірусів (сVDPV), Стратегічна консультативна група експертів ВООЗ (SAGE) рекомендувала введення щонайменше однієї дози інактивованої поліомієлітної вакцини (ІПВ) разом з оральною поліомієлітною вакциною (ОПВ) в країнах, які в даний час використовують ОПВ [див. World Health Organization. Meeting of the Strategic Advisory Group of Experts on Immunization, November 2012-conclusions and recommendations. *Wkly Epidemiol Rec* 2013; 88:1-16; PMID:23311010].

В даний час ІПВ одержують з використанням штаму дикого поліовірусу, тобто штаму Солка, а також більш нових штамів Себіна, які одержують з тих самих атенуйованих штамів Себіна, які використовують для одержання живої атенуйованої вакцини ОПВ. Затверджена стандартна доза вакцин проти поліомієліту, що вводяться внутрішньом'язово (в/м) або глибоко підшкірно (п/ш), містить антигени D у вигляді 40 одиниць інактивованого поліовірусу типу 1 (Махоні, Mahoney), 8 одиниць інактивованого поліовірусу типу 2 (MEF-I) і 32 одиниць інактивованого поліовірусу типу 3 (Сокет, Saukett) (наприклад, Інфанрікс-ІПВ™). Однак ІПВ характеризується високою собівартістю порівняно з ОПВ, здебільшого через потребу в більшій кількості вірусів на дозу; додаткову подальшу обробку (тобто концентрування, очищення і інактивація) та відповідні випробування контролю якості; втрату антигену або низьке вилучення на подальших етапах обробки; а також стримування.

За наявними оцінками собівартість ІПВ в даний час приблизно у 20 разів перевищує собівартість ОПВ. У майбутньому в усьому світі попит на ІПВ після знищення поліовірусів може зрости з нинішнього рівня у 80 мільйонів доз до 450 мільйонів доз на рік. Тому для зниження кінцевої вартості ІПВ докладають зусиль у напрямку зменшення кількості антигенних компонентів, а саме здійснюються спроби одержувати вакцинні препарати зі зниженою дозою ІПВ.

В усьому світі ротавірус є основною причиною важкої гострої діареї, і вакцина є перспективним рішенням для зменшення тяжкості захворювання. Згідно з оцінками кількість смертей від ротавірусної інфекції у світі скоротилася з 528000 до 215000 протягом тринадцяти років, з 2000 по 2013 рік, оскільки вакцина проти ротавірусу була впроваджена більш ніж в 60 країнах. З цієї кількості в 2013 році в Індії спостерігалось 47100 (22 %) смертей від ротавірусної інфекції. Індія, Нігерія, Пакистан і Демократична Республіка Конго - на ці чотири країни припала приблизно половина (49 %) всіх випадків смерті від ротавірусної інфекції в 2013 році.

У недавніх дослідженнях, проведених по всьому світу, було показано, що 4 серотипи ротавірусу, тобто серотипи G1, G2, G3 і G4, представляють понад 88 % штамів, проаналізованих в усьому світі. Серотип G1 ротавірусу А є однією з найбільш поширених форм вірусу, яка викликає захворювання по всьому світу, тоді як віруси серотипу G9 з'явилися з кінця 1990-х років і в даний час представляють приблизно 4 % глобальних ізолятів. Вакцинація проти ротавірусної інфекції є однією зі стратегій вирішення цієї серйозної проблеми охорони здоров'я. Дві зареєстровані в даний час оральні ротавірусні вакцини РотаТек і Ротарікс, які дуже ефективні в зниженні частоти випадків важкої діареї серед дітей в розвинених країнах і країнах із середнім рівнем доходу, є набагато менш ефективними (~ 50 %) у країнах Африки і Азії з низьким рівнем доходу, [див. Tate JE et al. "Sustained decline in rotavirus detections in the United States following the introduction of rotavirus vaccine in 2006. *Pediatr Infect Dis J* 2011 року; 30:S30-4; i Yen C et al. "Decline in rotavirus hospitalizations and health care visits for childhood diarrhea

following rotavirus vaccination in El Salvador". *Pediatr Infect Dis J* 2011 року; 30:S6-10]. Крім того дві існуючі в даний час ротавірусні вакцини були пов'язані з ризиком інвагінації у вакцинованих дітей, [див. Patel MM et al. "Intussusception risk and health benefits of rotavirus vaccination in Mexico and Brazil. *N Engl J Med* 2011 року; 364: 2283-92 і Buttery JP et al. "PAEDS /APSU Study Group. Intussusception following rotavirus vaccine administration: post-marketing surveillance in the National Immunization Program in Australia". *Vaccine* 2011 року; 29:3061-6].

Одна з кандидатних ротавірусних вакцин компанії Bharat Biotech International заснована на штамі ротавірусу 116E, G9P[11], який є природним реасортантом, що містить один ген ротавірусу великої рогатої худоби P[11] і десять генів ротавірусу людини. Захист, що забезпечується цією вакциною протягом перших 2 років життя, спрямований проти ряду циркулюючих генотипів, включаючи G1P[8], G2P[4], G12P[6], G12P[8] і G9P[4]. Таким чином вона не здатна забезпечити перехресний захист від інших штамів, таких як G3, G4, G5, G6, G8, G10, G11, G13 і G14. Крім того ефективність вакцини, заснованої на 116E, в перші 2 роки життя була помірною (від 48 до 55 %), як і для інших зареєстрованих вакцин, [див. Nita Bhandari et al. "Efficacy of a bivalent human-bovine (116E) rotavirus vaccine in Indian children in the second year of life"; *Vaccine*. 2014 Aug 11; 32 Suppl 1:A110-6]. Доклінічні випробування декількох інших призначених для внутрішньом'язового введення кандидатних ІРВ, заснованих на штамів G1, G3 або G6, також продемонстрували тільки частковий захист.

Крім того було виявлено, що інактивація ротавірусу за допомогою β -пропіолактону (БПЛ), агента, що широко використовується для інактивації багатьох вірусів, викликає серйозні пошкодження цілісності і біохімічного складу часток ротавірусу. Більш того ротавірус, оброблений БПЛ, продемонстрував знижену гемаглютинуючу активність, внутрішньом'язова ін'єкція такого матеріалу мишам зменшила утворення нейтралізуючих антитіл порівняно з імунізацією живим вірусом [див. Offit PA et al "Noninfectious rotavirus (strain RRV) induces an immune response in mice which protects against rotavirus challenge". *J Clin Microbiol* 1989; 27:885-8].

У багатьох регіонах світу імунізація із використанням ІРВ вже замінила імунізацію з використанням ОПВ, так що через декілька років ротавірусна вакцина буде єдиною вакциною, яка вводиться перорально, що збільшує вартість доставки. Таким чином ряд експлуатаційних і логістичних міркувань свідчить на користь застосування ІРВ як в країнах, що розвиваються, так і в розвинених країнах.

Поява димерів в D/T, ймовірно, є наслідком процесу детоксикації під дією формаліну. Існування димерів може вплинути на ефективність процесу кон'югації - очевидно за рахунок стеричних перешкод на поверхні білка - що призводить до втрати активності, тому вважається бажаним, щоб рівень мономерів не опускався нижче 80 %. Раніше повідомлялося, що T, що містить не менше 60 % мономера, може бути одержаний з використанням хроматографії з гідروفобною взаємодією (ХГВ) з подальшим іонним обміном; T з вмістом мономера 73 % можна одержати, використовуючи тільки ХГВ-фенілсефарозу, T з вмістом мономера 55 % можна одержати, використовуючи тільки сульфат амонію. Отже необхідний альтернативний одностадійний спосіб для одержання D/T з вмістом мономера не менше 80 %.

Комбіновані вакцини містять дві або більше вакцин, які можна вводити окремо або об'єднувати в одну композицію. Вакцини забезпечують такий самий захист, як і при введенні у вигляді окремих вакцин, але при меншій кількості щеплень. Таким чином комбінована вакцина забезпечує імуногенність проти великої кількості захворювань і завжди є кращою у порівнянні з одновалентними вакцинами, оскільки дотримання плану імунізації покращується за рахунок зменшення кількості окремих щеплень.

Компанія Bharat Biotech International розробляє семивалентну комбіновану вакцину, яка включає D, T, безклітковий компонент кашлюку, Себін ІРВ (тип 1: 40 DU, тип 2: 8 DU, тип 3: 32DU), один штам інактивованого ротавірусу (штам G9, тобто штам 116E), кон'юговану вакцину проти *Haemophilus influenzae* типу b, кон'югат ПРФ з правцевим анатоксином і рекомбінантну вакцину для профілактики гепатиту В. Як обговорювалося раніше, така семивалентна комбінована вакцина, що включає в себе вакцину на основі 116E, не зможе забезпечити перехресний захист від інших штамів, таких як G3, G4, G5, G6, G8, G10, G11, G13 і G14. Крім того ефективність зазначеного ІРВ-компонента комбінованої вакцини в перші 2 роки життя буде помірною (від 48 до 55 %), як і для інших зареєстрованих вакцин.

Інша комбінована вакцина Нехуол® (яку також називають Нехасіма® і Нехакім®) компанії Sanofi Pasteur містить аК. Ця вакцина, ймовірно, буде призначена для ринків приватних покупців в Європі і в усьому світі. Ще одна шестивалентна комбінована вакцина з антигеном аК в даний час знаходиться у фазі III клінічних досліджень і є спільною розробкою компаній Merck і Sanofi Pasteur.

В даний час вакцина Infanrix Hexa® компанії GSK є єдиною на світовому ринку шестивалентною педіатричною комбінованою вакциною, що містить ІПВ. Ця вакцина містить ацелюлярний компонент кашлюку (аК) і випускається у формі "шприц плюс флакон з ліофілізатом" через нестабільність компоненту ХіБ. Основними перешкодами для використання вакцини Infanrix Hexa® (GSK) в умовах країн, що розвиваються, є ціна вакцинного препарату, вимоги до відновлення ліофілізованої форми і сумніви з приводу ефективності вакцини аК в країнах, що розвиваються. З точки зору вартості вартість антигенів аК історично перевищувала вартість антигенів цК в 10-30 разів через відмінностей у одержанні і розмір роялті. Таким чином використання цільноклітинного кашлюку (цК) в полівалентних комбінованих вакцинах, призначених для країн, що розвиваються, стало важливим як через вартість, так і через побоювання щодо довгострокової ефективності вакцин аК, особливо в умовах країн, що розвиваються.

Декілька полівалентних комбінованих вакцин, що містять цК і ІПВ, знаходяться на стадії розробки. Однак антигени ІПВ несумісні зі звичайним вакцинним консервантом тимеросалом, сполукою, що містить ртуть і проявляє антибактеріальну активність, яка приводить до того, що капсид поліовірусу втрачає свою антигенність. Тимеросал використовують багато виробників вакцин для інактивації живих мікроорганізмів *B. pertussis* з метою одержання вакцинного матеріалу цК, який переноситься в готовий продукт, але також призводить до зниження антигенності ІПВ, тому може виникати необхідність випуску ІПВ в окремому флаконі, окремо від цК, що містить тимеросал, для збереження його активності з плином часу.

Існує інформація про те, що цільноклітинна комбінована вакцина компанії GSK (цКДС-ІПВ-ВГВ//ХіБ) проходить декілька ранніх клінічних досліджень. Однак імуногенність поліовірусного компоненту цього вакцинного препарату була не такою високою, як у вакцини для порівняння, також було виявлено, що необхідна доза ІПВ буде щонайменше такою ж, як і поточна стандартна доза вакцини ІПВ, або можливо її необхідно буде збільшити.

Ефективні вакцинні препарати зі зменшеною дозою, які забезпечують захист від інфекції з використанням меншої дози антигену ІПВ, бажані в ситуаціях, коли постачання звичайної вакцини є недостатнім для задоволення глобальних потреб або коли вартість одержання звичайної вакцини перешкоджає продажу вакцини за ціною, доступною для країн, що розвиваються. Крім того вплив нижчої дози ІПВ у порівнянні з існуючими на ринку вакцинними препаратами може бути більш безпечним. Полівалентна комбінована вакцина може спростити складні графіки планової імунізації дітей, полегшити дотримання графіків імунізації і знизити витрати на доставку. Однак полівалентні вакцини, що містять ІПВ, були технічною проблемою для виробників вакцин з тих пір, як на початку 1990-х років вони почали комбінувати дитячі вакцини.

Нестабільність антигену ХіБ у присутності алюмінієвого ад'юванта, а саме гідроксиду алюмінію, є серйозною технічною проблемою. Таким чином технічна задача, яку виробник повинен вирішити, полягає в тому, щоб уникнути використання різних алюмінієвих ад'ювантів, якщо вакцинний матеріал, який планується використовувати в комбінації, вже заснований на різних сполуках алюмінію. Таким чином послідовність додавання антигенів стає важливим фактором, оскільки змішування несумісних антигенів або ад'ювантів може призвести до небажаних фізичних характеристик кінцевого продукту (наприклад, до утворення надлишкового осаду і труднощів при ресуспендуванні) [див. Malecker et al 1996, "Factors affecting the ability of experimental vaccines to protect guinea pigs against lethal challenge with Diphtheria Toxin"; presented at WHO/IABS/NIBSC International meeting on the control and standardization of Acellular pertussis Vaccines, UK, Sep 26-27 1996].

Відомі і доступні в даний час комбіновані вакцини можуть не містити придатних композицій відповідних антигенів у відповідних імуногенних формах, достатніх для досягнення бажаних рівнів ефективності та імуногенності у сприйнятливій групі людей, для декількох захворювань в одному щепленні. Більш важливим є те, що відсутні комерційно доступні полівалентні комбінації зі зниженою дозою ІПВ (ІПВ), ІПВ, що забезпечує широкий перехресний захист, і цільноклітинним кашлюковим компонентом (цК). З огляду на обговорюваний вище сценарій щодо комбінованих вакцин, існує явна потреба у доступній рідкій полівалентній комбінованій вакцині (вакцинах), придатній для країн, що розвиваються, яка забезпечує рівнозначну або покращену серопротекцію для окремих антигенів, уникаючи негативної взаємодії антигенів.

Короткий опис винаходу:

Даний винахід стосується стабільної, імуногенної комбінованої вакцини (вакцин), що містить суміш антигенів для запобігання та профілактики інфекцій, що викликаються ротавірусом, вірусом поліомієліту, *Haemophilus influenzae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium tetani*, *Bordetella pertussis* і вірусом гепатиту В. Зокрема відповідно до даного винаходу пропонується

полівалентна комбінована вакцина, що містить і) істотно знижену дозу антигенів Солка ІПВ або Себіна ІПВ (ІПВ), одержаних з використанням вдосконалених методів інактивації шляхом впливу формальдегіду та адсорбції на гідроксиді алюмінію, що приводить до максимального вилучення D-антигена, і ii) придатний для ін'єкційного введення інактивованій нагріванням ротавірусний антиген (антигени), одержаний зі штамів ротавірусу (CDC-9), який забезпечує широкий перехресний імунітет до штамів людського ротавірусу, iii) кон'югат ХіБ ПРФ-білок-носії, який має підвищену стабільність і імуногенність, при цьому зазначений кон'югат ХІБ ПРФ-білок-носії спочатку одержують з використанням нового процесу кон'югації, а потім змішують при низькій температурі в присутності стабілізатора для мінімізації вивільнення вільного ПРФ, iv) цільноклітинний кашлюковий антиген з підвищеною імуногенністю і стабільністю, одержаний шляхом додавання цільноклітинного кашлюкового антигена у суміш на більш пізній стадії, що забезпечує мінімізацію деградації на основі гідролізу, v) гомогенні фракції дифтерійного анатоксину і правцевого анатоксину, одержані шляхом видалення небажаних агрегатів з використанням гель-проникаючої хроматографії. Крім того у винаході розкривається спосіб одержання такої стабільної і імуногенної вакцини шляхом і) індивідуальної адсорбції антигенів ІПВ, ІРВ зі зниженою дозою на гідроксиді алюмінію і утримування іншого антигену (антигенів) у неадсорбованому стані або в адсорбованому стані на фосфаті алюмінію або гідроксиді алюмінію або комбінації обох речовин та ii) використання певного порядку додавання антигенів під час змішування. Даний винахід пропонує також доступну комбіновану вакцину (вакцини), що підходить для країн, що розвиваються, яка забезпечує рівнозначну або покращену серопротекцію для окремих антигенів, уникаючи негативної взаємодії антигенів.

Фігури:

Фіг. 1: Очищення дифтерійного анатоксину - хроматограма, одержана методом гел'фільтраційної хроматографії, Sephacryl S-300 HR, колонка ХК 26/70.

Детальний опис винаходу

Даний винахід стосується полівалентної комбінованої вакцини (вакцин), що містить (i) інактивованій поліовірус, що характеризується зниженою дозою, вибраний зі штамів Себіна або Солка; (ii) придатні для ін'єкційного введення інактивовані штами ротавірусу CDC-9; (iii) необов'язково один або декілька антигенів, вибраних з такого списку: D, Т, цК, HBsAg, кон'югат ХіБ ПРФ-білок-носії, антиген(и) *Neisseria meningitidis* А, антиген(и) *Neisseria meningitidis* С, антиген(и) *Neisseria meningitidis* W-135, антиген(и) *Neisseria meningitidis* Y, антиген(и) *Neisseria meningitidis* X, антиген(и) *Streptococcus Pneumoniae*, мембранні пухирці або очищені антигени *Neisseria meningitidis* В, антиген(и) *Staphylococcus*, сибірська виразка, БЦЖ, антиген(и) вірусу гепатиту А, антиген вірусу гепатиту В, вірус папіломи людини, антиген(и) *Salmonella Typhi*, ацелюлярний кашлюк, модифікована аденилатциклаза, антиген малярії (RTS.S), антигени збудників кору, епідемічного паротиту, краснухи, вірусу Денге, вірусу Зика, вірусу Ебола, вірусу Чікунгунья, японського енцефаліту, діарейні антигени і т.д.

Компоненти, що входять до складу комбінованої вакцинної композиції:

Інактивованій вірус поліомієліту

Поліовірус (вірус поліомієліту) є високоінфекційним вірусом. Поліовірус проникає в нервову систему і може викликати необоротний параліч протягом декількох годин. У світі існує три типи поліовірусу, тобто Тип 1, Тип 2 і Тип 3.

Перший варіант реалізації даного винаходу включає покращені способи інактивації поліовірусу (штами Солка або Себіна) шляхом впливу формальдегіду в присутності Трис-буфера, що сприяє максимальному вилучення D-антигену. Подальша адсорбція зазначеного ІПВ на гідроксиді алюмінію забезпечує значне зниження дози ІПВ у вакцинній композиції. Даний винахід пропонує покращений процес інактивації під впливом формаліну і адсорбції на гідроксиді алюмінію, в якому відсоток вилучення D-антигену після інактивації знаходиться в діапазоні 50-80 %, а відсоток адсорбції на гідроксиді алюмінію знаходиться в діапазоні 70-99 %.

Відповідно до одного з аспектів першого варіанту реалізації винаходу клітини CCL81-VERO (клітини нирки мавпи) використовували як клітини-господарі для вирощування поліовірусу, тобто штамів Себіна і Солка. Після зараження клітин-господарів відповідним штамом поліовірусу і інкубування протягом 72 годин середовище, що містить вірус і клітинний дебрис, об'єднували і збирали в один контейнер.

Відповідно до другого аспекту першого варіанту реалізації винаходу зібране середовище піддавали серії фільтрацій (фільтрувальна установка з фільтрами з розміром пор 6 мкм і 0,45 мкм); фільтрат збирали у скляний контейнер. Фільтрат піддавали фільтрації в тангенціальному потоці з використанням касети 100 кДа; діафільтрації з використанням фосфатного буфера і очищенню з використанням аніонообмінної хроматографії.

Відповідно до третього аспекту першого варіанту реалізації винаходу очищений пул вірусу додатково піддавали буферному обміну із фосфатного буфера в Трис-буфер (від 30 до 50 мМ, рН: 7-7,5) з використанням системи фільтрації в тангенціальному потоці (ФТП) (100 кДа, 0,1 м²) з подальшим додаванням М-199 і 0,1-1,0 % гліцину.

5 Відповідно до четвертого аспекту першого варіанту реалізації винаходу очищений пул вірусу в Трис-буфері піддавали інактивації під дією 0,01-1,0 % формаліну при безперервному перемішуванні вірусного матеріалу і інкубували при температурі навколишнього середовища протягом 13 днів з проміжною фільтрацією на 7 день. Далі інактивованій матеріал піддавали кінцевій фільтрації, а потім зберігали при температурі 2-8 °С.

10 Відповідно до п'ятого аспекту першого варіанту реалізації винаходу кінцевий очищений матеріал піддавали адсорбції на Al(OH)₃, при цьому кінцева концентрація алюмінію (Al³⁺) знаходилася в діапазоні від 0,1 до 1,5 мг/доза, для доведення до необхідного об'єму був використаний М-199+0,5 % гліцину, значення рН було встановлено на рівні 6-7 з використанням 1 н. HCl/NaOH, з наступним перемішуванням протягом ночі при температурі 2-8 °С.

15 Автори даного винаходу несподівано виявили, що втрата D-антигену після інактивації формальдегідом була викликана присутністю фосфатного буфера, який несподівано викликає небажану агрегацію поліовірусів. Даний винахід пропонує вдосконалений процес інактивації формальдегідом в присутності Трис-буфера, що гарантує мінімальні епітопні модифікації і таким чином зводить до мінімуму втрату D-антигену.

20 Інактивований ротавірус:

Ротавіруси є найбільш поширеною причиною важких діарейних захворювань у дітей молодшого віку в усьому світі. Оральні, живі, атенуйовані ротавірусні вакцини доступні по усьому світу і вважаються безпечними і ефективними в профілактиці шлунково-кишкових захворювань.

25 Другий варіант реалізації даного винаходу включає підготовку, очищення і одержання ротавірусного матеріалу. Зазначений спосіб одержання придатних для ін'єкційного введення інактивованих нагріванням ротавірусних антигенів, що відносяться до нового штаму, тобто CDC-9, передбачає використання термічної інактивації і адсорбції на ад'юванті - гідроксиді алюмінію.

30 Відповідно до першого аспекту другого варіанту реалізації винаходу ротавірус культивували з використанням клітин Vero (CCL-81) як клітин-господарів, зібраний матеріал освітлювали з використанням фільтрувальної установки з фільтрами з розміром пор 30 мкм і 2 мкм для видалення клітинного дебриса.

35 Відповідно до другого аспекту другого варіанту реалізації винаходу освітлений зібраний матеріал обробляли бензоназою (2000-10000 одиниць на літр) з інкубуванням при температурі 37 °С протягом 4 годин при безперервним перемішуванні. Зокрема використовувана концентрація бензонази становила 5000 одиниць на літр.

40 Відповідно до третього аспекту другого варіанту реалізації винаходу матеріал, оброблений бензоназою, піддавали концентруванню 10X і діафільтрації 4X з використанням буфера складу "HBSS (збалансований сольовий розчин Хенкса) + 10 % сорбіту" і касет 100 кДа.

Відповідно до четвертого аспекту другого варіанту реалізації винаходу матеріал, одержаний після діафільтрації, необов'язково може бути підданий діалізу з використанням буфера для розведення і додатково очищений з використанням афінної хроматографії, переважно з використанням сульфату целлуфіна як смоли для колонкової хроматографії.

45 Відповідно до п'ятого аспекту другого варіанту реалізації винаходу був використаний удосконалений спосіб термічної інактивації ротавірусу. Цей спосіб є швидким, простим і дозволяє підтримувати цілісність і таким чином зберігати антигенність ротавірусних частинок. Температура, яка використовувалась для термічної інактивації, перебувала в діапазоні від 60 °С до 70 °С; час інкубування становив від приблизно 10 хвилин до 24 години включно. Переважно час інкубування становив від приблизно 30 хвилин до 10 годин. Більш переважно інактивацію очищеного CDC-9 проводили з використанням нагрівання при температурі 60 °С протягом 5 годин з однією зміною контейнера через дві години. Інактивованій матеріал CDC-9 зберігали при температурі -80 °С до моменту подальшого використання.

55 Відповідно до шостого аспекту другого варіанту реалізації винаходу адсорбцію інактивованого ротавірусного антигену здійснювали на гідроксиді алюмінію, при цьому кінцева концентрація алюмінію (Al⁺⁺⁺) становила від 0,2 мг/доза до 0,8 мг/доза.

Кон'югат *Haemophilus influenzae* b ПРФ-білок:

60 *Haemophilus influenzae* типу b є грамнегативною бактерією, що викликає менінгіт та гострі респіраторні інфекції, переважно у дітей. Зовнішня оболонка *H. influenzae* типу b складається з полірібозил-рибітол-фосфату (ПРФ), полісахариду, який відповідає за вірулентність і імунітет.

ПРФ представляє собою гаптен, який вважається слабо імуногенним за своєю природою, тому ПРФ ковалентно зв'язаний з білком-носієм для утворення високоімуногенного антигену Хіб. Цей спосіб замінює полісахарид з Т-незалежного на Т-залежний антиген і значно підвищує імуногенність, особливо у маленьких дітей.

5 Третій варіант реалізації даного винаходу включає одержання кон'югату Хіб ПРФ-білок. Можна відзначити, що білки-носії, які використовуються для кон'югації з антигеном Хіб, вибирають з групи, що включає такі варіанти: CRM₁₉₇ (перехресно-реактивний матеріал 197, генетично детоксифікована форма дифтерійного анатоксину), дифтерійний анатоксин, комплекс білків зовнішньої мембрани *Neisseria meningitidis*, фрагмент С правцевого анатоксину, кашлюковий анатоксин, білок *D. H. influenzae*, *E. coli* LT, *E. coli* ST, і ендотоксин А *Pseudomonas aeruginosa*, комплекс білків зовнішньої мембрани с (ОМРС), порини, білки, що зв'язуються з трансферинном, пневмолізін, пневмококовий поверхневий білок А (PspA), пневмококовий поверхневий адгезин А (PsaA), пневмококовий PhtD, пневмококові поверхневі білки BVH-3 і BVH-11, захисний антиген (PA) *Bacillus anthracis* і детоксифікований фактор набряку (EF) і фактор летальності (LF) *Bacillus anthracis*, овальбумін, гемоціанін фіссурелли (KLH), людський сироватковий альбумін, бичачий сироватковий альбумін (БСА) очищена білкова похідна туберкуліну (PPD), синтетичні пептиди, білки теплового шоку, кашлюкові білки, цитокіни, лімфокіни, гормони, фактори росту, штучні білки, включаючи множинні людські CD4+ Т-клітинні епітопи з різних антигенів патогенів, такі як N 19, білки, захоплюючи залізо, токсин А або В *S. difficile* і білки *S. agalactiae* або їх еквіваленти. Переважно білок-носії, що входять до складу кон'югату, вибирають з СА або CRM₁₉₇.

Відповідно до першого аспекту третього варіанту реалізації винаходу антиген Хіб одержують з капсульного полісахариду штаму *Haemophilus influenzae* типу b. Для одержання полісахариду ПРФ бактерії *H. Influenzae* типу b вирощували у напівсинтетичному середовищі при певних умовах температури, перемішування, оптичної щільності і т.д.. ПРФ представляє собою зовнішній мембранно-зв'язаний полісахарид, який вивільняється у середовище під час культивування в умовах перемішування. Відділений від біомаси культуральний бульйон містить неочищений ПРФ, який був підданий очищенню шляхом осадження з використанням поверхнево-активної речовини броміду N,N,N-триметил-1-гексадеканамінію з подальшим осадженням у градієнті етанолу і фільтрацією. Готовий очищений полісахарид ПРФ був досліджений на відповідність таким критеріям, як вміст ендотоксинів, нуклеїнових кислот і білка, відповідно до вимог ВООЗ, Британської фармакопеї, Європейської фармакопеї, Індійської фармакопеї тощо.

Відповідно до другого аспекту третього варіанту реалізації винаходу кон'югат полісахарид-білок був одержаний шляхом сполучення полісахариду (ПРФ) з білком-носієм. Хіб ПРФ був кон'югований з білком-носієм з використанням процесу кон'югації, що складається з таких етапів: деполімеризація ПРФ з використанням лужного буферного розчину для одержання ПРФ зі зменшеним розміром молекул; обробка агентом ціанілювання, таким як ЦДАП (тетрафторборат 1-ціано-4-диметил-амінопіридинію) з метою одержання ціанатного естеру; сполучення активованого ціанільованого полісахариду з аміногрупою білка-носія; очищення готового кон'югату з використанням ультрафільтрації.

Більш переважно як оптимальне співвідношення реагентів для реакції кон'югації, тобто ПРФ, ЦДАП і CRM₁₉₇, було вибрано співвідношення 1:1,5:1. Під час кон'югації очищений полісахарид ПРФ був деполімеризований з використанням лужного буферного розчину (0,4 М карбонатно-бікарбонатний буферний розчин, рН 10,5±0,1) для одержання ПРФ зі зменшеним розміром молекул. ПРФ зі зменшеним розміром молекул був оброблений речовиною ЦДАП (тетрафторборат 1-ціано-4-диметил-амінопіридинію) для ціанілювання з утворенням ціанатного естеру. Активованій ціанільований полісахарид був безпосередньо сполучений з аміногрупою білка-носія CRM₁₉₇. Ступінь перетворення кон'югату Хіб підтверджували шляхом випробувань відібраних зразків методом ВЕРХ. Реакція кон'югації була зупинена після досягнення необхідного рівня перетворення кон'югату, відповідного параметру "перетворення кон'югату Хіб не менше 65 %», після досягнення цього значення реакція кон'югації була зупинена шляхом додавання гліцину (2 М). Кон'югат Хіб ПРФ-CRM₁₉₇ був підданий додатковому очищенню шляхом ультрафільтрації через мембранні фільтри (300 кДа і 100 кДа) для видалення реактивів, які не прореагували, і побічних продуктів. Готовий кон'югований матеріал фільтрують через фільтр з розміром пор 0,22 мкм і поміщають на зберігання при температурі 2-8 °С.

Відповідно до третього аспекту третього варіанту реалізації винаходу Хіб ПРФ кон'югований з білком-носієм, при цьому співвідношення сахарид: білок (маса / маса) знаходиться в діапазоні від 0,4 до 1; а вміст вільного ПРФ в готовому кон'югаті Хіб ПРФ-білок становить не більше 5 %, переважно менше 2 %.

Дифтерійний анатоксин (D)

Дифтерія представляє собою інфекційне захворювання, яке спричиняється бактерією *Corynebacterium diphtheria*, що вражає головним чином горло і верхні дихальні шляхи та виробляє токсин, що вражає інші органи. Дифтерійний токсин є екзотоксином, який секретується *Corynebacterium diphtheria*, має антигенні властивості і є токсичний за своєю природою. Для зменшення токсичності токсин перетворюють на неактивний анатоксин, піддаючи його інактивації. Спосіб інактивації може бути вибраний з такого списку: одна або декілька обробок нагріванням, УФ, формаліном/формальдегідом, ацетилетиленіміном і т.д.. Для збільшення імуногенності анатоксин адсорбують на ад'юванті. Одержаний таким чином анатоксин здатний індукувати утворення антитіл до токсину *C diphtheria*. Присутність димерів може призвести до небажаних реакцій.

Відповідно до четвертого варіанту реалізації даного винаходу був одержаний дифтерійний анатоксин.

Відповідно до першого аспекту четвертого варіанту реалізації винаходу дифтерійний токсин (екзотоксин) був одержаний з *Corynebacterium diphtheria* і підданий детоксикації з використанням придатного агента інактивування. Прикладом придатного агента інактивування є формальдегід.

Відповідно до другого аспекту четвертого варіанту реалізації винаходу одержаний дифтерійний анатоксин був очищений гель-фільтраційною хроматографією з використанням Sephacryl S-300 HR як смоли з лінійною швидкістю потоку від 2 до 5 мл/хв. Одержаний таким чином очищений матеріал D представляє собою гомогенну фракцію, яка не містить небажані агрегати (див. фіг. 1), а вміст мономерного дифтерійного анатоксину становить щонайменше 80-90 %, яку в подальшому використовують для одержання полівалентної вакцини (вакцин). Крім того PLgel, Sephacryl S-200HR, Sephadex, Bio-Gel (поперечно-зшитий поліакриламід), агарозний гель та/або Styragel також можуть бути використані для очищення з використанням гель-проникаючої хроматографії.

Відповідно до третього аспекту четвертого варіанту реалізації винаходу дифтерійний анатоксин адсорбували на одній або декількох солях алюмінію, включаючи гідроксид алюмінію і фосфат алюмінію, переважно на фосфаті алюмінію.

Правцевий анатоксин (T)

Правець представляє собою гостре інфекційне захворювання, що викликається токсигенними штамми бактерії *Clostridium tetani* (*C. tetani*), грампозитивною, спороутворюючою, суто анаеробною бактерією. Правцевий токсин є екзотоксином, що секретується *Clostridium tetani*, проявляє антигенні властивості і є токсичний за своєю природою. Для зменшення токсичності токсин перетворюють на неактивний анатоксин, піддаючи його інактивації. Спосіб інактивації може бути вибраний з такого списку: одна або декілька обробок нагріванням, УФ, формаліном/формальдегідом, ацетилетиленіміном і т.д.. Для збільшення імуногенності анатоксин адсорбують на ад'юванті. Одержаний таким чином анатоксин здатний індукувати утворення антитіл до токсину *Clostridium tetani*. Присутність димерів може призвести до небажаних реакцій.

Відповідно до п'ятого варіанту реалізації даного винаходу був одержаний правцевий анатоксин.

Відповідно до першого аспекту п'ятого варіанту реалізації винаходу правцевий токсин був одержаний з *Clostridium tetani* і підданий детоксикації з використанням придатного агента інактивування. Прикладом придатного агента інактивування є формальдегід.

Відповідно до другого аспекту п'ятого варіанту реалізації винаходу одержаний правцевий анатоксин був очищений гель-фільтраційною хроматографією з використанням Sephacryl S-300 HR як смоли з лінійною швидкістю потоку від 2 до 5 мл/хв. Одержаний таким чином очищений матеріал T представляє собою гомогенну фракцію, яка не містить небажані агрегати, а вміст мономерного правцевого анатоксину становить щонайменше 80-90 %, яку в подальшому використовують для одержання полівалентної вакцини. Крім того PLgel, Sephacryl S-200HR, Sephadex, Bio-Gel (поперечно-зшитий поліакриламід), агарозний гель та Styragel також можуть бути використані для очищення з використанням гель-проникаючої хроматографії.

Відповідно до третього аспекту п'ятого варіанту реалізації винаходу правцевий анатоксин адсорбували на одній або декількох солях алюмінію, включаючи гідроксид алюмінію і фосфат алюмінію, переважно на фосфаті алюмінію.

Кашлюковий антиген

Кашлюк (судомний кашель) викликається *Bordetella pertussis*, невеликою грамнегативною кокобацилою, яка вражає слизові оболонки дихальних шляхів людини. Використовують дві форми вакцини: цілюноклітинна кашлюкова вакцина (цК) і ацелюлярна кашлюкова вакцина (аК).

Цільноклітинні кашлюкові вакцини представляють собою суспензії цілісних мікроорганізмів *B. pertussis*, які були інактивовані зазвичай за допомогою формаліну. Імунізація вакциною цК є відносно недорогою і високоефективною. Крім того присутність цК у комбінованих вакцинах діє як ад'ювант для багатьох інших антигенних компонентів.

5 Ацелюлярні кашлюкові вакцини (аК) містять очищені компоненти *B. pertussis*, такі як інактивованій кашлюковий токсин, окремо або у комбінації з іншими компонентами *B. pertussis*, такими як філаментозний гемаглютинін, фімбріальні антигени, пертактин і модифікована аденілатциклаза. Ацелюлярна кашлюкова вакцина викликає менше небажаних реакцій у порівнянні з вакциною цК.

10 Відповідно до шостого варіанту реалізації даного винаходу вакцина проти кашлюка представляє собою кашлюковий антиген, вибраний із одного або декількох антигенів цільноклітинного кашлюка або ацелюлярного кашлюка.

15 Відповідно до першого аспекту шостого варіанту реалізації винаходу вакцина проти кашлюка представляє собою ацелюлярний кашлюковий антиген (один або декілька), вибраний з такого списку: філаментозний гемаглютинін, фімбріальні антигени, пертактин і модифікована аденілатциклаза. Ацелюлярні кашлюкові антигени можуть бути експресовані в культурі придатних клітин-господарів з використанням технології рекомбінантної ДНК.

20 Відповідно до другого аспекту шостого варіанту реалізації винаходу вакцина проти кашлюка представляє собою цільноклітинний кашлюковий антиген, що складається зі штамів *Bordetella pertussis* 134, 509, 25525 і 6229 в певному співвідношенні, згодом інактивованій з використанням покращених методів інактивації без застосування тимеросала; що приводить до зниження реактогенності і збільшення активності. Переважно антиген цК одержують зі штамів *Bordetella pertussis* 134, 509, 25525 і 6229, змішаних у співвідношенні 1:1:0,25:0,25.

25 Відповідно до третього аспекту шостого варіанту реалізації винаходу спосіб інактивації цК включає інактивацію нагріванням при температурі 56 ± 2 °C протягом 10-15 хвилин в присутності формальдегіду; при цьому матеріал цК залишається негрудкуватим і легко гомогенізується, що приводить до зниження реактогенності і забезпечує кращу активність цК протягом більш тривалого періоду часу.

Поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HBsAg)

30 Гепатит В є потенційно небезпечною для життя інфекцією печінки, що викликається вірусом гепатиту В (ВГВ). Поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HBsAg) представляє собою поверхневий білок, який також діє як імуноген у високоефективних вакцинах для профілактики інфекції ВГВ. Білок HBsAg може бути рекомбінантно експресований у придатному мікроорганізмі-господарі; або може бути виділений з плазми крові пацієнта з хронічним гепатитом В / носія.

35 Відповідно до сьомого варіанту реалізації даного винаходу був одержаний поверхневий антиген гепатиту В (HBsAg).

40 Відповідно до першого аспекту сьомого варіанту реалізації винаходу HBsAg експресували в клітинах дріжджів *Hansenula polymorpha* з використанням технології рекомбінантної ДНК. Як клітини-господарі для рекомбінантної експресії HBsAg також можуть бути використані інші дріжджі, такі як *Saccharomyces cerevisiae*.

45 Відповідно до другого аспекту сьомого варіанту реалізації винаходу антиген гепатиту В (HBsAg) адсорбували на одній або декількох солях алюмінію, включаючи гідроксид алюмінію і фосфат алюмінію, переважно на фосфаті алюмінію.

Двовалентна комбінована вакцинна композиція та спосіб її одержання

Відповідно до восьмого варіанту реалізації даного винаходу полівалентна вакцина представляє собою повністю рідку двовалентну комбіновану вакцину. Двовалентна комбінована вакцина містить інактивованій поліовірус типу I, II і III; інактивованій ротавірус (IPV).

50 Відповідно до першого аспекту восьмого варіанту реалізації винаходу інактивованій поліовірус вибраний із групи, що включає штами Солка і Себіна; а концентрації окремих ІПВ на основі штамів Себіна Типу 1, Типу 2 або Типу 3 не перевищують 20 одиниць антигену D.

55 Відповідно до другого аспекту восьмого варіанту реалізації винаходу інактивованій поліовірус представляє собою штам Солка, концентрації окремих ІПВ на основі штамів Солка Типу 1, Типу 2 або Типу 3 вибирають з групи доз, що включає такі варіанти: 7,5-16-10, 8-2-5, 10-2-5, 10-2-10, 10-2-12, 10-2-16, 7,5-16-10, 5-2-5 одиниць антигену D; більш переважно концентрації окремих ІПВ на основі штамів Солка Типу 1, Типу 2 або Типу 3 вибирають з групи, що включає такі варіанти: 8-2-5 і 10-2-10 одиниць антигену D.

60 Відповідно до третього аспекту восьмого варіанту реалізації винаходу інактивованій поліовірус представляє собою штам Себіна, концентрації окремих ІПВ на основі штамів Себіна Типу 1, Типу 2 і Типу 3 вибирають з групи доз, що включає такі варіанти: 5-16-10, 2,5-8-5, 5-8-10

одиниць антигену D; більш переважно концентрації окремих ІПВ на основі штамів Себіна Типу 1, Типу 2 і Типу 3 становлять 5-16-10 одиниць антигену D.

Відповідно до четвертого аспекту восьмого варіанту реалізації винаходу придатний для ін'єкційного введення інактивованій нагріванням ротавірус (ІРВ) представляє собою ротавірусний штам CDC-9 або CDC-66, а концентрація ІРВ знаходиться в діапазоні 5-50 мкг/доза, більш переважно концентрація ІРВ становить 10 мкг/доза.

Відповідно до п'ятого аспекту восьмого варіанту реалізації винаходу двовалентна композиція була одержана шляхом індивідуальної адсорбції матеріалу ІПВ (штам Себіна / Солка) і матеріалу ІРВ на одній або декількох солях алюмінію, включаючи гідроксид алюмінію і фосфат алюмінію, переважно на гідроксиді алюмінію. Потім індивідуальні одновалентні адсорбовані матеріали ІПВ і ІРВ були змішані один з одним і переміщені на хитку платформу при температурі 2-8 °С на 1-4 години.

Шестивалентна комбінована вакцинна композиція та спосіб її одержання Відповідно до дев'ятого варіанту реалізації даного винаходу повністю рідка шестивалентна (цКДС-ІПВ-ІРВ-ХіБ) вакцина була одержана таким чином:

а) Здійснювали індивідуальну адсорбцію матеріалу ІПВ (штам Себіна/Солка) і матеріалу ІРВ на гідроксиді алюмінію при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,2-6,6.

б) Здійснювали адсорбцію D на фосфаті алюмінію при подальшому встановленні значення рН на рівні 5,5-6,5 і додаванні Т та змішуванні шляхом перемішування при кімнатній температурі протягом 18-24 годин.

в) Розчини, одержані на стадіях а і б, змішували при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,4-6,6 і перемішуванні при кімнатній температурі протягом 60 хвилин.

г) До зазначеної вище суміші додавали цК і гістидин при подальшому перемішуванні протягом 60 хвилин, після чого суміш залишали в статичному стані на ніч при температурі 2-8 °С.

е) До суміші, одержаної на стадії г, додавали кон'югат ХіБ ПРФ і 2-феноксиетанол (2-ФЕ) при температурі 2-8 °С при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,4-6,6.

ф) До суміші, одержаної на стадії е, додавали NaCl і ВДІ (у достатній кількості) при подальшому перемішуванні протягом 2 годин.

Відповідно до десятого варіанту реалізації даного винаходу композиція полівалентної вакцини представляє собою повністю рідку шестивалентну комбіновану вакцину. До складу повністю рідкої шестивалентної вакцини входять дифтерійний анатоксин (D); правцевий анатоксин (Т); інактивованій цільноклітинний антиген *B. pertussis* (цК); інактивовані поліовіруси штаму Солка Типу I, II і III; інактивованій ротавірус (ІРВ); а також кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-СА та інші допоміжні речовини, такі як ад'ювант на основі алюмінію (фосфат алюмінію, гідроксид алюмінію), 2-феноксиетанол, L-гістидин і ВДІ.

Відповідно до одного з переважних аспектів десятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою шестивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості в діапазоні від 1 до 50 Lf; Т міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 Lf; цК міститься у кількості в діапазоні від 10 до 50 IOU; інактивованій поліовірус штаму Солка, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D; ІРВ міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-СА міститься у кількості в діапазоні від 2 до 20 мкг вмісту ПРФ; алюміній (Al³⁺) міститься у кількості в діапазоні від 0,4 до 1,5 мг; 2-феноксиетанол міститься у кількості в діапазоні від 2 до 6 мг; L-гістидин міститься у кількості в діапазоні від 0,5 до 5 мг і ВДІ.

Відповідно до одного з найбільш переважних аспектів десятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою шестивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 IOU; інактивованій поліовірус штаму Солка, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 10 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості 2 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості 10 або 16 одиниць антигену D; ІРВ міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-СА міститься у кількості 5 мкг; алюміній міститься у кількості не більше 0,9 мг; 2-феноксиетанол міститься у кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг і ВДІ.

Відповідно до одинадцятого варіанту реалізації даного винаходу композиція полівалентної вакцини представляє собою повністю рідку шестивалентну комбіновану вакцину. До складу повністю рідкої шестивалентної вакцини входять дифтерійний анатоксин (D); правцевий анатоксин (Т); інактивованій цільноклітинний антиген *B. pertussis* (цК); інактивовані поліовіруси

штаму Солка Типу I, II і III; інактивований ротавірус (IPB); а також кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM₁₉₇ і інші допоміжні речовини, такі як ад'ювант на основі алюмінію (фосфат алюмінію, гідроксид алюмінію), 2-феноксиетанол, L-гістидин і ВДІ.

5 Відповідно до одного з переважних аспектів одинадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою шестивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості в діапазоні від 1 до 50 Lf; T міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 Lf; цК міститься у кількості в діапазоні від 10 до 50 IOU; інактивований поліовірус штаму Солка, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM₁₉₇ міститься у кількості в діапазоні від 2 до 20 мкг вмісту ПРФ; алюміній (Al³⁺) міститься у кількості в діапазоні від 0,4 до 1,5 мг; 2-феноксиетанол міститься у кількості в діапазоні від 2 до 6 мг; L-гістидин міститься у кількості в діапазоні від 0,5 до 5 мг, і ВДІ.

15 Відповідно до одного з найбільш переважних аспектів одинадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою шестивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; T міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 IOU; інактивований поліовірус штаму Солка, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 10 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості 2 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості 10 або 16 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM₁₉₇ міститься у кількості 10 мкг; алюміній міститься у кількості не більше 0,9 мг; 2-феноксиетанол міститься у кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг і ВДІ.

25 Відповідно до дванадцятого варіанту реалізації даного винаходу композиція полівалентної вакцини представляє собою повністю рідку шестивалентну комбіновану вакцину. До складу повністю рідкої шестивалентної вакцини входять дифтерійний анатоксин (D); правцевий анатоксин (T); інактивований цілноклітинний антиген *B. pertussis* (цК); інактивовані поліовіруси штаму Себіна Типу I, II і III; інактивований ротавірус (IPB); а також кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CA і інші допоміжні речовини, такі як ад'ювант на основі алюмінію (фосфат алюмінію, гідроксид алюмінію), 2-феноксиетанол, L-гістидин і ВДІ.

30 Відповідно до одного з переважних аспектів дванадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою шестивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості в діапазоні від 1 до 50 Lf; T міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 Lf; цК міститься у кількості в діапазоні від 10 до 50 IOU; інактивований поліовірус штаму Себіна, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CA міститься у кількості в діапазоні від 2 до 20 мкг вмісту ПРФ; алюміній (Al³⁺) міститься у кількості в діапазоні від 0,4 до 1,5 мг; 2-феноксиетанол міститься у кількості в діапазоні від 2 до 6 мг; L-гістидин міститься у кількості в діапазоні від 0,5 до 5 мг, і ВДІ.

45 Відповідно до одного з найбільш переважних аспектів дванадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою шестивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; T міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 IOU; інактивований поліовірус штаму Себіна, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 5 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості 16 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості 10 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CA міститься у кількості 5 мкг; алюміній міститься у кількості не більше 0,9 мг; 2-феноксиетанол міститься у кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг і ВДІ.

50 Відповідно до тринадцятого варіанту реалізації даного винаходу композиція полівалентної вакцини представляє собою повністю рідку шестивалентну комбіновану вакцину. До складу повністю рідкої шестивалентної вакцини входять дифтерійний анатоксин (D); правцевий анатоксин (T); інактивований цілноклітинний антиген *B. pertussis* (цК); інактивовані поліовіруси штаму Себіна Типу I, II і III; інактивований ротавірус (IPB); а також кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM₁₉₇ і інші допоміжні речовини, такі як ад'ювант на основі алюмінію (фосфат алюмінію, гідроксид алюмінію), 2-феноксиетанол, L-гістидин і ВДІ.

60 Відповідно до одного з переважних аспектів тринадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою шестивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості в діапазоні від 1 до 50 Lf; T міститься у кількості в діапазоні від 1 до

30 Lf; цК міститься у кількості в діапазоні від 10 до 50 IOU; інактивованій поліовірус штаму Себіна, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM₁₉₇ міститься у кількості в діапазоні від 2 до 20 мкг вмісту ПРФ; алюміній (Al³⁺) міститься у кількості в діапазоні від 0,4 до 1,5 мг; 2-феноксиетанол міститься у кількості в діапазоні від 2 до 6 мг; L-гістидин міститься у кількості в діапазоні від 0,5 до 5 мг, і ВДІ.

Відповідно до одного з найбільш переважних аспектів тринадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою шестивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 IOU; інактивованій поліовірус штаму Себіна, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 5 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості 16 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості 10 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM₁₉₇ міститься у кількості 10 мкг; алюміній міститься у кількості не більше 0,9 мг; 2-феноксиетанол міститься у кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг і ВДІ.

Семивалентна комбінована вакцинна композиція та спосіб її одержання

Відповідно до чотирнадцятого варіанту реалізації даного винаходу семивалентна (цКДС-НВsAg-ІПВ-ІРВ-Хіб) вакцина була одержана таким чином:

а) Здійснювали індивідуальну адсорбцію матеріалу ІПВ (штам Себіна/Солка) і матеріалу ІРВ на гідроксиді алюмінію при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,2-6,6.

б) Здійснювали адсорбцію НВsAg на фосфаті алюмінію при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,0-6,5.

в) Здійснювали адсорбцію D на фосфаті алюмінію при подальшому встановленні значення рН на рівні 5,5-6,5 і додаванні Т.

г) Розчини, одержані на стадіях в і с, об'єднували при подальшому перемішуванні при кімнатній температурі протягом 18-24 годин.

д) Додавали зазначені вище суміші [одержані на стадіях а і в] при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,4-6,6 і перемішуванні при кімнатній температурі протягом 60 хвилин.

е) До зазначеної вище суміші додавали цК і гістидин при подальшому перемішуванні протягом 60 хвилин, після чого суміш залишали в статичному стані на ніч при температурі 2-8 °С.

ж) До суміші, одержаної на стадії е, додавали кон'югат Хіб ПРФ і 2-ФЕ при температурі 2-8 °С при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,4-6,6.

з) До суміші, одержаної на стадії ж, додавали NaCl и ВДІ (у достатній кількості) при подальшому перемішуванні протягом 2 годин.

Відповідно до п'ятнадцятого варіанту реалізації даного винаходу композиція полівалентної вакцини представляє собою повністю рідку семивалентну комбіновану вакцину. До складу повністю рідкої семивалентної вакцини входять дифтерійний анатоксин (D); правцевий анатоксин (Т); інактивованій цільноклітинний антиген *B. pertussis* (цК); інактивовані поліовіруси штаму Солка Типу I, II і III; інактивованій ротавірус (ІРВ); а також кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-СА, поверхневий антиген вірусу гепатиту В (НВsAg) та інші допоміжні речовини, такі як ад'ювант на основі алюмінію (фосфат алюмінію, гідроксид алюмінію), 2-феноксиетанол, L-гістидин і ВДІ.

Відповідно до одного з переважних аспектів п'ятнадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою семивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості в діапазоні від 1 до 50 Lf; Т міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 Lf; цК міститься у кількості в діапазоні від 10 до 50 IOU; інактивованій поліовірус штаму Солка, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-СА міститься у кількості в діапазоні від 2 до 20 мкг вмісту ПРФ; поверхневий антиген вірусу гепатиту В (НВsAg) міститься у кількості в діапазоні від 5 до 30 мкг; алюміній (Al³⁺) міститься у кількості в діапазоні від 0,4 до 1,5 мг; 2-феноксиетанол міститься у кількості в діапазоні від 2 до 6 мг; L-гістидин міститься у кількості в діапазоні від 0,5 до 5 мг і ВДІ.

Відповідно до одного з найбільш переважних аспектів п'ятнадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою семивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у

кількості 15 IOU; інактивований поліовірус штаму Солка, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 10 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості 2 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості 10 або 16 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-СА міститься у кількості 5 мкг; поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HBsAg) міститься у кількості 12,5 мкг; алюміній міститься у кількості не більше 0,9 мг; 2-феноксietанол міститься у кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг і ВДІ.

Відповідно до шістнадцятого варіанту реалізації даного винаходу композиція полівалентної вакцини представляє собою повністю рідку семивалентну комбіновану вакцину. До складу повністю рідкої семивалентної вакцини входять дифтерійний анатоксин (D); правцевий анатоксин (Т); інактивований цільноклітинний антиген *B. pertussis* (цК); інактивовані поліовіруси штаму Солка Типу I, II і III; інактивований ротавірус (IPB); а також кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM₁₉₇; поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HBsAg) і інші допоміжні речовини, такі як ад'ювант на основі алюмінію (фосфат алюмінію, гідроксид алюмінію), 2-феноксietанол, L-гістидин і ВДІ.

Відповідно до одного з переважних аспектів шістнадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою семивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості в діапазоні від 1 до 50 Lf; Т міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 Lf; цК міститься у кількості в діапазоні від 10 до 50 IOU; інактивований поліовірус штаму Солка, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM₁₉₇ міститься у кількості в діапазоні від 2 до 20 мкг вмісту ПРФ; поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HBsAg) міститься у кількості в діапазоні від 5 до 30 мкг; алюміній (Al³⁺) міститься у кількості в діапазоні від 0,4 до 1,5 мг; 2-феноксietанол міститься у кількості в діапазоні від 2 до 6 мг; L-гістидин міститься у кількості в діапазоні від 0,5 до 5 мг, і ВДІ.

Відповідно до одного з найбільш переважних аспектів шістнадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою семивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 IOU; інактивований поліовірус штаму Солка, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 10 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості 2 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості 10 або 16 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM₁₉₇ міститься у кількості 10 мкг вмісту ПРФ; поверхневий антиген гепатиту В (HBsAg) міститься у кількості 12,5 мкг; алюміній міститься у кількості не більше 0,9 мг; 2-феноксietанол міститься у кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг і ВДІ.

Відповідно до сімнадцятого варіанту реалізації даного винаходу композиція полівалентної вакцини представляє собою повністю рідку семивалентну комбіновану вакцину. До складу повністю рідкої семивалентної вакцини входять дифтерійний анатоксин (D); правцевий анатоксин (Т); інактивований цільноклітинний антиген *B. pertussis* (цК); інактивовані поліовіруси штаму Себіна Типу I, II і III; інактивований ротавірус (IPB); а також кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-СА; поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HBsAg) і інші допоміжні речовини, такі як ад'ювант на основі алюмінію (фосфат алюмінію, гідроксид алюмінію), 2-феноксietанол, L-гістидин і ВДІ.

Відповідно до одного з переважних аспектів сімнадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою семивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості в діапазоні від 1 до 50 Lf; Т міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 Lf; цК міститься у кількості в діапазоні від 10 до 50 IOU; інактивований поліовірус штаму Себіна, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-СА міститься у кількості в діапазоні від 2 до 20 мкг вмісту ПРФ; поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HBsAg) міститься у кількості в діапазоні від 5 до 30 мкг; алюміній (Al³⁺) міститься у кількості в діапазоні від 0,4 до 1,5 мг; 2-феноксietанол міститься у кількості в діапазоні від 2 до 6 мг; L-гістидин міститься у кількості в діапазоні від 0,5 до 5 мг, і ВДІ.

Відповідно до одного з найбільш переважних аспектів сімнадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою семивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у

кількості 15 IOU; інактивований поліовірус штаму Себіна, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 5 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості 16 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості 10 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-СА міститься у кількості 5 мкг вмісту ПРФ; поверхневий антиген гепатиту В (HBsAg) міститься у кількості 12,5 мкг; алюміній міститься у кількості не більше 0,9 мг; 2-феноксietанол міститься у кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг і ВДІ.

Відповідно до вісімнадцятого варіанту реалізації даного винаходу композиція полівалентної вакцини представляє собою повністю рідку семивалентну комбіновану вакцину. До складу повністю рідкої семивалентної вакцини входять дифтерійний анатоксин (D); правцевий анатоксин (Т); інактивований цілюноклітинний антиген *B. pertussis* (цК); інактивовані поліовіруси штаму Себіна Типу I, II і III; інактивований ротавірус (IPB); кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM₁₉₇; поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HBsAg) і інші допоміжні речовини, такі як ад'ювант на основі алюмінію (фосфат алюмінію, гідроксид алюмінію), 2-феноксietанол, L-гістидин і ВДІ.

Відповідно до одного з переважних аспектів вісімнадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою семивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості в діапазоні від 1 до 50 Lf; Т міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 Lf; цК міститься у кількості в діапазоні від 10 до 50 IOU; інактивований поліовірус штаму Себіна, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості в діапазоні від 1 до 20 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості в діапазоні від 1 до 30 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM₁₉₇ міститься у кількості в діапазоні від 2 до 20 мкг вмісту ПРФ; поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HBsAg) міститься у кількості в діапазоні від 5 до 30 мкг; алюміній (Al³⁺) міститься у кількості в діапазоні від 0,4 до 1,5 мг; 2-феноксietанол міститься у кількості в діапазоні від 2 до 6 мг; L-гістидин міститься у кількості в діапазоні від 0,5 до 5 мг, і ВДІ.

Відповідно до одного з найбільш переважних аспектів вісімнадцятого варіанту реалізації винаходу полівалентна вакцинна композиція представляє собою семивалентну вакцинну композицію, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 IOU; інактивований поліовірус штаму Себіна, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 5 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 - у кількості 16 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 - у кількості 10 одиниць антигену D; IPB міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM₁₉₇ міститься у кількості 10 мкг вмісту ПРФ; поверхневий антиген гепатиту В (HBsAg) міститься у кількості 12,5 мкг; алюміній міститься у кількості не більше 0,9 мг; 2-феноксietанол міститься у кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг і ВДІ.

Відповідно до дев'ятнадцятого варіанту реалізації даного винаходу композиція/склад комбінованої вакцини містить один або більше консервантів, які вибирають з групи, що включає хлорид бензетонія (Фемерол), тіомерсал, фенол і 2-феноксietанол (2-ФЕ). Більш переважно, композиція/склад комбінованої вакцини як консервант містить 2-феноксietанол (2-ФЕ).

Відповідно до двадцятого варіанту реалізації винаходу композиція/склад комбінованої вакцини містить одну або більше фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних із групи, що включає цукри і поліоли, поверхнево-активні речовини, полімери, солі, амінокислоти, модифікатори рН тощо.

Відповідно до першого аспекту двадцятого варіанту реалізації винаходу цукри і поліоли включають сахарозу, трегалозу, лактозу, мальтозу, галактозу, манітол, сорбітол, гліцерин і т.д. Відповідно до другого аспекту двадцятого варіанту реалізації винаходу поверхнево-активні речовини включають неіонні поверхнево-активні речовини, такі як полісорбат 20, полісорбат 80 тощо. Відповідно до третього аспекту двадцятого варіанту реалізації винаходу полімери включають декстран, карбоксиметилцеллюлозу, гіалуронову кислоту, циклодекстрин тощо. Приклади солей можуть включати NaCl, MgCl₂, KCl, CaCl₂ і т.д. Відповідно до четвертого аспекту двадцятого варіанту реалізації винаходу амінокислоти включають аргінін, гліцин, гістидин тощо. Відповідно до п'ятого аспекту двадцятого варіанту реалізації винаходу модифікатори рН включають гідроксид натрію, соляну кислоту тощо.

Відповідно до двадцять першого варіанту реалізації даного винаходу значення рН композиції/складу готової комбінованої вакцини знаходиться в діапазоні від 6,0 до 7,5; більш переважно в діапазоні від 6,2 до 7,2; найбільш переважно в діапазоні від 6,4 до 6,6.

Приклади

Приклад 1: Одержання інактивованого антигену поліовірусу (Солка / Себіна), що характеризується зниженою дозою

Компанія Serum Institute of India розробила спосіб інактивації і адсорбції інактивованого поліовірусу відповідно до такого протоколу:

5 Клітини CCL81-VERO (клітини нирки мавпи) використовували як клітини-господарі для вирощування поліовірусу, тобто штамів Себіна і Солка.

Очищення ІПВ

10 Пул освітленої зібраної культуральної рідини піддавали концентруванню 10X з використанням системи фільтрації в тангенціальному потоці з касетами 100 кДа (0,5 м²), а потім триразовій діафільтрації з фосфатним буфером (40 мМ, рН: 7,0).

15 Концентрат очищали способом іонообмінної хроматографії (ІОХ). 10X концентрат після ФТП пропускали через смолу DEAE Sepharose для швидкого потоку (слабка аніонообмінна смола), вміщену в колонку хк-26 з використанням системи Akta explorer (GE Healthcare). Негативно заряджені домішки зв'язувалися на колонці, тоді як поліовірус був зібраний в потоці з фосфатним буфером 40 мМ.

З метою мінімізації втрат антигена протягом достатньо тривалого процесу інактивації (13 днів) очищений пул вірусного матеріалу піддавали буферному обміну із фосфатного буфера в ТРИС-буфер (40 мМ, рН: 7) з використанням системи ФТП [100 кДа, 0,1 м²]. Очищений пул вірусного матеріалу піддавали обміну з трьома об'ємами Трис-буфера.

20 Інактивація ІПВ

До 10X концентрованого М-199 додавали 0,5 % розчин гліцину для досягнення підсумкової концентрації 1X. До очищеного вірусного матеріалу додавали агент інактивування формалін (0,025 %) при постійному перемішуванні. Інактивацію проводили при температурі 37 °С при постійному перемішуванні протягом 13 днів, з проведенням фільтрації через фільтр з розміром пор 0,22 мкм на 7 і 13 день.

Результати і висновки

30 Коли методи інактивації формальдегідом проводили в присутності фосфатного буфера, спостерігалися істотні втрати антигену D штамів Себіна і Солка, однак було показано, що інактивація формальдегідом в присутності Трис-буфера приводила до мінімальних втрат антигену D.

	Вміст антигену D (40 мМ фосфатний буфер в процесі інактивації)	Вміст антигену D (40 мМ Трис-буфер в процесі інактивації)
Тип I	52,70 одиниць антигену D/мл	408,19 одиниць антигену D/мл
Тип II	22,63 одиниць антигену D/мл	180,20 одиниць антигену D/мл
Тип III	4,21 одиниць антигену D/мл	21,50 одиниць антигену D/мл

Приклад 2: Одержання придатного для ін'єкційного введення інактивованого нагріванням ротавірусного антигену (ІРВ)

35 Був використаний штам ротавірусу (CDC-9), описаний у РСТ-заявці на патент № РСТ/US2010/034537 під назвою "Нові штамми людського ротавірусу і вакцини", поданій 12 травня 2010 року; і в РСТ-заявці на патент № РСТ/US2008/075239 під назвою "Термічна інактивація ротавірусу", поданій 4 вересня 2008 року.

40 Центри контролю і профілактики захворювань США (CDC) розробили спосіб інактивації ротавірусу. CDC також розробили аналіз для проведення випробувань на специфічні IgG до ротавірусу і нейтралізуючі антитіла.

Ротавірус (штам CDC-9) культивували з використанням клітин Vero (CCL-81) як клітин-господарів, зібраний матеріал освітлювали з використанням фільтрувальної установки з фільтрами з розміром пор 30+2 мкм для видалення клітинного дебриса.

45 Освітлений зібраний матеріал обробляли бензоназою (5000 одиниць на літр) з інкубуванням при температурі 37 °С протягом 4 годин при безперервному перемішуванні.

Матеріал, оброблений бензоназою, піддавали концентруванню 10X і діафільтрації 4X з використанням буферу складу "HBSS (збалансований сольовий розчин Хенкса) + 10 % сорбіту" і касет 100 кДа.

50 Матеріал, одержаний після діафільтрації, піддавали діалізу з використанням буфера для розведення і додатково очищали з використанням афінної хроматографії (зі смолою сульфат целлуфіна).

Інактивацію очищеного CDC-9 проводили з нагріванням при температурі 60 °С протягом 5 годин з однією зміною контейнера через дві години. Інактивований матеріал CDC-9 зберігали при температурі -80 °С до моменту подальшого використання.

Приклад 3: Очищення дифтерійного анатоксину

5 Дифтерійний анатоксин був очищений з використанням гель-фільтраційної хроматографії із застосуванням наведених нижче параметрів процесу:

Таблиця 1

Параметри процесу

№	Параметр	Інформація
1	Використовуваний нативний матеріал D	--
2	Вміст (нативний матеріал D) за допомогою аналізу Лоурі	11 мг/мл
3	LF/мл	3000
4	Метод очищення	Гель-фільтраційна хроматографія (ГФХ)
5	Смола	Sephacryl S-300 HR
6	Використовувана колонка	ХК 26/70 см
7	Висота шару в колонці	~ 50 см
8	Лінійна швидкість потоку	1-3 мл/хв
9	Завантаження зразків (D)	4 % від загального об'єму шару в колонці
10	Збір фракцій	5 мл кожна (2 хвилини)
11	Аналіз	Аналіз Лоурі, визначення LF, визначення % мономера

10 1). Фракції з 6 по 11 були об'єднані і піддані аналізу для визначення вмісту мономера (див. фіг. 1).

Результати і пояснення:

15 Було проведено безліч циклів із застосуванням наведених вище параметрів. Концентрат CRM₁₉₇ був використаний як маркер для порівняння % вмісту мономера. Мономерний CRM₁₉₇ можна розглядати як найчистішу форму ДА. Було виявлено, що процентний вміст мономера знаходився в діапазоні від 80 до 90 %.

Таблиця 2

% вилучення і вміст мономера для одержаного очищеного ДА

№	Досліджуваний зразок	Концентрація білка (мг/мл)	% мономера	% вилучення
1	Нативний ДА	---	67,19	--
2	Нативний CRM	---	86,96	--
3	GFC DT FR 8	2,03	83,21	Введена кількість ДА 120 мг Одержана кількість 75,1 мг (62,5 %)
4	GFC DT FR 9	3,38	87,15	
5	GFC DT FR 10	4,08	87,24	
6	GFC DT FR 11	3,52	86,60	
7	GFC DT FR 12	2,01	89,97	
8	GFC DT FR 10-11	3,83	86,03	
9	GFC DT FR 9-12	2,96	87,42	48,9 %
10	GFC DT FR 7-13	2,19	86,24	63,3 %

Приклад 4: Очищення правцевого анатоксину

20 Правцевий анатоксин був очищений з використанням гель-фільтраційної хроматографії / ХГВ (фенілсефароза) із застосуванням наведених нижче параметрів процесу:

Параметри процесу

№	Параметр	Інформація
1	Використовуваний нативний матеріал Т	--
2	Вміст (нативний матеріал Т) за допомогою аналізу Лоурі	11 мг/мл
3	LF/мл	3000
4	Метод очищення	Гель-фільтраційна хроматографія (ГФХ)
5	Смола	Sephacryl S-300 HR
6	Використовувана колонка	ХК 26/70 см
7	Висота шару в колонці	~50 см
8	Лінійна швидкість потоку	1-3 мл/хв
9	Завантаження зразків (Т)	4 % від загального об'єму шару в колонці
10	Збір фракцій	5 мл кожна (2 хвилини)
11	Аналіз	Аналіз Лоурі, визначення LF, визначення % мономера

Результати:

Було проведено безліч циклів із застосуванням наведених вище параметрів. Було виявлено, що процентний вміст мономера знаходився в діапазоні від 80 до 90 %.

5 Приклад 5: Одержання кон'югату Хіб ПРФ-білок

Полісахарид ПРФ був одержаний таким чином:

10 Бактерії *H. influenzae* типу b вирощували в напівсинтетичному середовищі при певних умовах температури, перемішування, оптичної щільності тощо. ПРФ представляє собою зовнішній мембранно-зв'язаний полісахарид, який вивільняється в середовище під час культивування в умовах перемішування. Відокремлений від біомаси культуральний бульйон містить неочищений ПРФ, який піддавали очищенню шляхом осадження з використанням поверхнево-активної речовини бромід N,N,N-триметил-1-гексадеканамінію, з подальшим осадженням в градієнті етанолу і фільтрацією. Готовий очищений полісахарид ПРФ аналізували на відповідність таким характеристикам, як вміст ендотоксинів, нуклеїнових кислот і білка, відповідно до вимог ВООЗ, Британської фармакопеї, Європейської фармакопеї, Індійської фармакопеї тощо.

Кон'югат Хіб ПРФ-білок був одержаний таким чином:

20 Кон'югат полісахариду був одержаний шляхом об'єднання полісахариду ПРФ з білком-носієм CRM₁₉₇. Як оптимальне співвідношення реагентів для реакції кон'югації, тобто ПРФ, ЦДАП і CRM₁₉₇ було вибрано співвідношення 1:1,5:1. Під час кон'югації очищений полісахарид ПРФ деполімеризували з використанням лужного буферного розчину (0,4 М карбонатно-бікарбонатний буферний розчин, рН 10,5±0,1) з метою одержання ПРФ зі зменшеним розміром молекул. ПРФ зі зменшеним розміром молекул був оброблений речовиною ЦДАП (тетрафторборат 1-ціано-4-диметиламінопіридинію) для ціанілювання з утворенням ціанатного естеру. Активованій ціанільований полісахарид може таким чином бути безпосередньо сполучений з аміногрупою білка-носія CRM₁₉₇. Ступінь перетворення кон'югату Хіб була підтверджена методом ВЕРХ. Реакція кон'югації була зупинена після досягнення необхідного рівня перетворення кон'югату, відповідного параметру "перетворення кон'югату Хіб не менше 65 %", після досягнення цього значення реакція кон'югації була зупинена шляхом додавання гліцину (2 М). Кон'югат Хіб ПРФ-CRM₁₉₇ був очищений шляхом ультрафільтрації через мембранні фільтри (300 кДа і 100 кДа) для видалення реактивів, які не прореагували, і побічних продуктів. Готовий кон'югований матеріал профільтрований через фільтр з розміром пор 0,22 мкм, після чого його помістили на зберігання при температурі 2-8 °С.

35 Були визначені наведені нижче характеристики якості антигенного кон'югату Хіб ПРФ-CRM₁₉₇:

Вміст ПРФ (мг/мл)	1,49
Вміст білка (мг/мл)	2,98
Відношення (Ps: білок)	0,52
Вільний ПРФ (%)	1,77
Молекулярна маса білка (кДа)	983
Середня молекулярна маса (кДа)	752

Приклад 6: Композиція двовалентної (ІПВ-ІРВ) вакцини

Компанія Serum Institute of India розробила двовалентну композицію, що містить знижену дозу інактивованого поліовірусу та інактивованій ротавірусу, відповідно до наведеного нижче протоколу:

5 Композиція двовалентної вакцини описана нижче.

Таблиця 4

Композиція двовалентної вакцини

Компоненти	Двовалентна вакцина, склад I (Солк ІПВ + ІРВ)	Двовалентна вакцина, склад II (Солк ІПВ + ІРВ)	Двовалентна вакцина, склад III (Солк ІПВ + ІРВ)	Двовалентна вакцина, склад IV (Себін ІПВ + ІРВ)
Вміст антигену - ІПВ	Тип 1: ≥8 одиниць антигену D/доза Тип 2: ≥ 2 одиниць антигену D/доза Тип 3: ≥ 5 одиниць антигену D/доза	Тип 1: ≥ 10 одиниць антигену D/доза Тип 2: ≥ 2 одиниць антигену D/доза Тип 3: ≥ 10 одиниць антигену D/доза	Тип 1: ≥ 10 одиниць антигену D/доза Тип 2: ≥ 2 одиниць антигену D/доза Тип 3: ≥ 16 одиниць антигену D/доза	Тип 1: ≥ 5 одиниць антигену D/доза Тип 2: ≥ 16 одиниць антигену D/доза Тип 3: ≥ 10 одиниць антигену D/доза
Вміст антигену - ІРВ	Загальний білок ≥ 10 мкг/доза	Загальний білок ≥ 10 мкг/доза	Загальний білок ≥ 10 мкг/доза	Загальний білок ≥ 10 мкг/доза
Алюміній	0,8 мг/доза	0,8 мг/доза	0,8 мг/доза	0,8 мг/доза

Приклад 6а: Одержання двовалентної (ІПВ-ІРВ) вакцини

3 З метою одержання комбінованої вакцини ІПВ-ІРВ інактивовану поліовакцину Солка, що містить антиген типу 1 (40 одиниць антигену D), типу 2 (8 одиниць антигену D і типу 3 (32 одиниці антигену D), змішували з інактивованою ротавірусною вакциною (10 мкг).

10

Після цього композицію розбавляли в два і в чотири рази для одержання дози, розведеної в два рази (50 %) і в чотири рази (25 %). В ході аналізу цих трьох композицій був визначений вміст антигенів, як наведено нижче.

Таблиця 4а

	Композиція 1 100 %	Композиція 2 50 %	Композиція 3 25 %
ІПВ Типу 1	40 одиниць антигену D	20 одиниць антигену D	10 одиниць антигену D
ІПВ Типу 2	8 одиниць антигену D	4 одиниці антигену D	2 одиниці антигену D
ІПВ Типу 3	32 одиниці антигену D	16 одиниць антигену D	8 одиниць антигену D
ІРВ	10 мікрограм	5 мікрограм	2,5 мікрограм

15

Досліджували імуногенність цих композицій на щурах, а також реєстрували імунну відповідь на ротавірусний антиген (WA) і поліовакцину (Себін, тип 1, 2 і 3).

Дослідження показали, що композиція 3 (яка містить 25 % вихідної композиції) продемонструвала таку ж імунну відповідь, як і вихідна композиція (див Фіг. 2 і 3). Таким чином можна зробити висновок, що найменша доза, яка містить ІПВ (тип 1-10 одиниць антигену D, тип 2-2 одиниці антигену D і тип 3 - 8 одиниць антигену D) та ІРВ (2,5 мікрограм), має таку ж імунну відповідь, як і вихідна композиція, що містить ІПВ (тип 40 одиниць антигену D, тип 2-8 одиниць антигену D і тип 3-32 одиниці антигену D) та ІРВ (10 мікрограм).

20

Фіг. 2: Порівняння імунної відповіді комбінованої вакцини (ІПВ-ІРВ) і композицій з різним розведенням доз на ротавірус штаму Wa при дослідженні реакції мікронеутралізації.

25

Фіг. 3: Порівняння імунної відповіді комбінованої вакцини (ІПВ-ІРВ) і композицій з різним розведенням доз на поліовірус штаму Себіна 1 при дослідженні реакції мікронеутралізації.

Фіг. 4: Порівняння імунної відповіді комбінованої вакцини (ІПВ-ІРВ) і композицій з різним розведенням доз на поліовірус штаму Себіна 2 при дослідженні реакції мікронеутралізації.

30

Фіг. 5: Порівняння імунної відповіді комбінованої вакцини (ІПВ-ІРВ) і композицій з різним розведенням доз на поліовірус штаму Себіна 3 при дослідженні реакції мікронеутралізації.

Приклад 7: Одержання двовалентної (ІПВ-ІРВ) вакцини

Двовалентна (ІПВ-ІРВ) вакцина була одержана описаним нижче способом:

Адсорбція ІПВ

Необхідний об'єм $Al(OH)_3$ поміщають у резервуар.

5 Додають необхідний об'єм одновалентного матеріалу ІПВ Солка/Себіна і для досягнення кінцевого об'єму додають розчинник.

Значення рН готової композиції доводять до 6,5 за допомогою 1 н. розчину NaOH/1 н. розчину HCl.

10 Одновалентну композицію поміщають у магнітну мішалку/на хитку платформу на ніч при температурі 2-8 °С.

Адсорбція ІРВ

Необхідний об'єм $Al(OH)_3$ поміщають у резервуар.

15 Додають необхідний об'єм матеріалу ІРВ і для досягнення кінцевого об'єму додають розчинник.

Значення рН готової композиції доводять до 6,5 за допомогою 1 н. розчину NaOH/1 н. розчину HCl.

Одновалентну композицію поміщають у магнітну мішалку/на хитку платформу на ніч при температурі 2-8 °С.

Одержання двовалентної (ІПВ-ІРВ) вакцини

20 Одновалентні композиції ІПВ і ІРВ змішують.

Суміш витримують при температурі 2-8 °С на хиткій платформі протягом 2 годин.

Готову композицію зберігають при температурі 2-8 °С до моменту її подальшого застосування.

25 Приклад 8: Дослідження ефективності двовалентної вакцини

Активність двовалентної вакцини оцінювали шляхом дослідження образів сироватки на вміст нейтралізуючих антитіл до поліовірусу Себіна типу 1, 2 і 3, а також до ротавірусу штаму Wa з використанням тесту мікронейтралізації. Титри нейтралізуючих антитіл до поліовірусу були вказані у форматі \log_2 . Титр нейтралізуючих антитіл, що дорівнює 2,5, вважався негативним. Для ротавірусу титр нейтралізуючих антитіл < 20 вважався негативним.

30

Таблиця 5

	Ідентифікатор зразка	Себін 1		Себін 2		Себін 3		ІРВ (Wa)	
		D0	D42	D0	D42	D0	D42	D0	D42
Солк 8-2-5 + ІРВ 10 мкг	7A	2,5	6,17	2,5	10,5	2,5	7,83	<20	320
	7B	2,5	4,5	2,5	7,17	2,5	2,5	<20	1280
	8A	2,5	7,83	2,5	9,5	2,5	8,83	<20	320
	8B	2,5	8,5	2,5	10,5	2,5	6,5	<20	160
Солк 5-2-5 + ІРВ 10 мкг	9A	2,5	5,5	2,5	10,5	2,5	3,5	<20	640
	9B	2,5	2,5	2,5	8,83	2,5	5,83	<20	640
Себін 5-16-10 + ІРВ 10 мкг	10A	2,5	7,5	2,5	9,5	2,5	6,5	<20	640
	10B	2,5	10,5	2,5	10,5	2,5	10,5	<20	320
	11A	2,5	10,5	2,5	10,5	2,5	10,5	<20	640
	11B	2,5	10,5	2,5	10,5	2,5	9,17	<20	640
Себін 2,5-8-5 + ІРВ 10 мкг	12A	2,5	10,5	2,5	10,5	2,5	8,83	<20	320
	12B	2,5	10,5	2,5	10,5	2,5	8,17	<20	80
Живий ротавірус (Log 5,5 FFU)	15A	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	<20	320
	15B	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	<20	640
Негативно	17A	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	<20	<20
	17B	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	<20	<20
	контроль	6,5		4,83		4,17		<20 (негативний контроль)	
		6,5		5,17		4,5		160 (позитивний контроль 1)	

Таблиця 5

	Ідентифікатор зразка	Себін 1		Себін 2		Себін 3		IPB (Wa)	
		D0	D42	D0	D42	D0	D42	D0	D42
		6,17		5,5		4,5		1280 (позитивний контроль 2)	
		5,83		4,5		5,5			

Числові значення (наприклад, 8-2-5) в стовпці А позначають одиниці антигену D поліовірусу Типів 1-2-3 відповідно. Кожна морська свинка (з 7 А по 12В) отримала три дози комбінованої вакцини, що містить ІРВ і 10 мкг антигену інактивованого ротавірусу (ІРВ) в день 1, день 14 і день 28, зразки сироватки були взяті в день 42. Морських свинок 15А і 15В, які отримали три дози живого ротавірусу (log 5,5 FFU або 10 мкг), розглядали як позитивну контрольну групу. У групі негативного контролю (17А і 17В) для імунізації використовували лише склад, що містить алюміній без антигену.

Таблиця 6

SNT для тривалентної вакцини Солка + ротавірус доза 1 і доза 2

Група 7: Вакцина Солка + ротавірус 8-2-5 (доза 1)				Група 8: Вакцина Солка + ротавірус 8-2-5 (доза 2)				Група 9: Вакцина Солка + ротавірус 5-2-5 (Доза 2)			
Щур №	Тип 1	Тип 2	Тип 3	Щур №	Тип 1	Тип 2	Тип 3	Щур №	Тип 1	Тип 2	Тип 3
1	2	7	7	1	10	8	11	1	3	9	12
2	3	7	9	2	7	8	10	2	7	6	12
3	4	7	8	3	7	7	7	3	7	8	10
4	4	6	10	4	10	7	10	4	11	9	8
5	0	7	8	5	9	7	12	5	5	6	10
6	0	9	10	6	5	8	9	6	10	9	12
7	5	7	10	7	5	6	10	7	6	6	12
8	8	9	6	8	10	8	11	8	2	10	12
9	4	8	5	9	6	9	11	9	9	9	10
10	6	8	10	10	7	9	10	10	5	НЗ	НЗ

Таблиця 7

SNT для тривалентної вакцини Себіна + ротавірус доза 1 і доза 2

Група 10: Вакцина Себіна + ротавірус 5-16-10 (доза 1)				Група 11: Вакцина Себіна + ротавірус 5-16-10 (доза 2)				Група 12: Вакцина Себіна + ротавірус 2,5-8-5 (доза 2)			
Щур №	Тип 1	Тип 2	Тип 3	Щур №	Тип 1	Тип 2	Тип 3	Щур №	Тип 1	Тип 2	Тип 3
1	7	4	11	1	8	7	12	1	5	4	11
2	10	5	11	2	5	7	НЗ	2	7	2	12
3	7	3	10	3	8	4	12	3	6	6	9
4	8	5	11	4	6	7	12	4	6	8	9
5	7	4	11	5	8	7	12	5	7	5	8
6	8	4	11	6	8	7	12	6	5	6	12
7	6	3	12	7	8	4	10	7	8	6	10
8	11	5	12	8	7	4	11	8	8	6	11
9	7	7	10	9	8	4	12	9	10	7	12
10	9	4	12	10	6	3	10	10	НЗ	НЗ	НЗ

Група 13: Комерційна вакцина Солка (доза 1)				Група 14: Комерційна вакцина Солка (доза 2)				Група 16			
								Негативна контрольна група			
Щур №	Тип 1	Тип 2	Тип 3	Щур №	Тип 1	Тип 2	Тип 3	Щур №	Тип 1	Тип 2	Тип 3
1	4	7	2	1	6	7	НЗ	1	0	0	0
2	0	4	6	2	3	8	11	2	0	0	0
3	0	6	5	3	1	7	8	3	0	0	0
4	4	8	9	4	7	8	9	4	0	0	0
5	0	7	3	5	2	5	7	5	0	0	0
6	3	6	3	6	7	8	10	6	0	0	0
7	3	6	6	7	7	6	9	7	0	0	0
8	0	4	6	8	12	7	9	8	0	0	0
9	5	8	5	9	10	9	11	9	0	0	0
10	0	4	5	10	5	8	7	10	0	0	0

Результати і пояснення:

- Двовалентна вакцина (ІПВ + ІРВ) характеризувалася значно вищою сероконверсією в день 42 у порівнянні з днем 0.
 - Одна доза тривалентного ІПВ Себіна, розробленого в SILL, що містить 5:16:10 одиниць антигену D з алюмінієм, має кращий показник сероконверсії у порівнянні з комерційно доступним ІПВ.
 - Подвійна доза тривалентного ІПВ Себіна, розробленого в SILL, що містить 2,5:8:5 одиниць антигену D з алюмінієм, має високий показник сероконверсії у порівнянні з комерційно доступним ІПВ.
 - Одна доза тривалентного ІПВ Солка, розробленого в SILL, що містить 8:2:5 одиниць антигену D з алюмінієм, має кращий показник сероконверсії у порівнянні з комерційно доступним ІПВ.
 - Подвійна доза тривалентного ІПВ Себіна, розробленого в SILL, що містить 5:2:5 одиниць антигену D з алюмінієм, має високий показник сероконверсії у порівнянні з комерційно доступним ІПВ.
- Приклад 9: Композиції шестивалентної комбінованої вакцини, що містить знижену дозу ІПВ, інактивованій ротавірус, D, Т, цК та кон'югат Хіб ПРФ-білок, наведені нижче:

Таблиця 8

Склад-1 шестивалентної вакцини Солка, що містить знижену дозу ІПВ

№	Компоненти, що входять до складу вакцини	Склад 1А	Склад 1В	Склад 1С	Склад 1D	Склад 1Е	Склад 1F	Склад 1G	Склад 1H
1	Дифтерійний анатоксин (D)	22,5 Lf							
2	Правцевий анатоксин (Т)	7,5 Lf							
3	Інактивованій антиген B. pertussis (цК)	15IOU							
4	Інактивованій поліовірус штаму Солка Тип I (одиниці антигену D)	10	7,5	8	10	10	7,5	5	10
	Тип II (одиниці антигену D)	2	16	2	2	2	16	2	2
	Тип III (одиниці антигену D)	10	10	5	5	12	10	5	16
5	Інактивованій ротавірус (ІРВ)	10 мкг							
6	Кон'югат H. Influenzae b ПРФ - CRM ₁₉₇	10 мкг вмісту ПРФ							
7	Вміст алюмінію	Не більше 0,9 мг Al ³⁺							

Таблиця 8

Склад-1 шестивалентної вакцини Солка, що містить знижену дозу ІПВ

№	Компоненти, що входять до складу вакцини	Склад 1А	Склад 1В	Склад 1С	Склад 1D	Склад 1Е	Склад 1F	Склад 1G	Склад 1H
8	2-феноксietанол	3,25 мг							
9	L-гістидин	1,55 мг							
10	ВДІ	У достатній кількості							

Таблиця 9

Склад-2 шестивалентної вакцини Солка, що містить знижену дозу ІПВ

№	Компоненти, що входять до складу вакцини	Склад 2А	Склад 2В	Склад 2С	Склад 2D	Склад 2Е	Склад 2F	Склад 2G	Склад 2H
1	Дифтерійний анатоксин (D)	22,5 Lf							
2	Правцевий анатоксин (Т)	7,5 Lf							
3	Інактивованій антиген В. pertussis (цК)	15 IOU							
4	Інактивованій поліовірус штаму Солка Тип I (одиниці антигену D)	10	7,5	8	10	10	7,5	5	10
	Тип II (одиниці антигену D)	2	16	2	2	2	16	2	2
	Тип III (одиниці антигену D)	10	10	5	5	12	10	5	16
5	Інактивованій ротавірус (IPB)	10 мкг							
6	Кон'югат Н. Influenzae b ПРФ-СА	5 мкг вмісту ПРФ							
7	Вміст алюмінію	Не більше 0,9 мг Al ³⁺							
8	2-феноксietанол	3,25 мг							
9	L-гістидин	1,55 мг							
10	ВДІ	У достатній кількості							

Таблиця 10

Склад-3 шестивалентної вакцини Себіна, що містить знижену дозу ІПВ

№	Компоненти, що входять до складу вакцини	Склад 3А	Склад 3В	Склад 3С
1	Дифтерійний анатоксин (D)	22,5 Lf		
2	Правцевий анатоксин (Т)	7,5 Lf		
3	Інактивованій антиген В. pertussis (цК)	15 IOU		
4	Інактивованій поліовірус штаму Себіна Тип I (одиниці антигену D)	5	2,5	5
	Тип II (одиниці антигену D)	16	8	8
	Тип III (одиниці антигену D)	10	5	10
5	Інактивованій ротавірус (IPB)	10 мкг		
6	Кон'югат Н. Influenzae b ПРФ-CRM ₁₉₇	10 мкг вмісту ПРФ		
7	Вміст алюмінію	Не більше 0,9 мг Al ³⁺		
8	2-феноксietанол	3,25 мг		
9	L-гістидин	1,55 мг		
10	ВДІ	У достатній кількості		

Склад-4 шестивалентної вакцини Себіна, що містить знижену дозу ІПВ

№	Компоненти, що входять до складу вакцини	Склад 4А	Склад 4В	Склад 4С
1	Дифтерійний анатоксин (D)	22,5 Lf		
2	Правцевий анатоксин (T)	7,5 Lf		
3	Інактивованій антиген <i>B. pertussis</i> (цК)	15 IOU		
4	Інактивованій поліовірус штаму Себіна Тип I (одиниці антигену D)	5	2,5	5
	Тип II (одиниці антигену D)	16	8	8
	Тип III (одиниці антигену D)	10	5	10
5	Інактивованій ротавірус (IPB)	10 мкг		
6	Кон'югат <i>H. Influenzae b</i> ПРФ-СА	5 мкг вмісту ПРФ		
7	Вміст алюмінію	Не більше 0,9 мг Al ³⁺		
8	2-феноксietанол	3,25 мг		
9	L-гістидин	1,55 мг		
10	ВДІ	У достатній кількості		

Приклад 10: Нижче наведений спосіб одержання композицій шестивалентної комбінованої вакцини, що містить знижену дозу ІПВ, інактивованій ротавірус, D, T, цК і кон'югат ХіБ ПРФ-білок:

а) Здійснювали індивідуальну адсорбцію матеріалу ІПВ (штам Себіна/Солка) і матеріалу IPB на гідроксиді алюмінію при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,2-6,6.

б) Здійснювали адсорбцію D на фосфаті алюмінію при подальшому встановленні значення рН на рівні 5,5-6,5 і додаванні T та змішуванні шляхом перемішування при кімнатній температурі протягом 18-24 годин.

в) Розчини, одержані на стадіях а і б, змішували при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,4-6,6 і перемішуванні при кімнатній температурі протягом 60 хвилин.

г) До зазначеної вище суміші додавали цК і гістидин при подальшому перемішуванні протягом 60 хвилин, після чого суміш залишали в статичному стані на ніч при температурі 2-8 °С.

е) До суміші, одержаної на стадії г, додавали кон'югат ХіБ ПРФ і 2-феноксietанол (2-ФЕ) при температурі 2-8 °С при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,4-6,6.

ф) До суміші, одержаної на стадії е, додавали NaCl і ВДІ (у достатній кількості) при подальшому перемішуванні протягом 2 годин.

Кон'югат ХіБ ПРФ-білок, який був одержаний з використанням нового процесу кон'югування і згодом підданий змішуванню при низькій температурі в присутності стабілізатора, демонстрував більш високу стабільність при мінімальному вивільненні вільного ПРФ і підвищеній імуногенності. Крім того додавання цільноклітинного кашлюкового антигену в суміш на більш пізній стадії забезпечувало зведення до мінімуму деградації шляхом гідролізу і гарантувало одержання стабільного і імуногенного антигену цК.

Приклад 11: Композиції семивалентної комбінованої вакцини, що містить знижену дозу ІПВ, інактивованій ротавірус, T, цК, HBsAg та кон'югат ХіБ ПРФ-білок, наведені нижче:

Таблиця 12

Склад-5 семивалентної вакцини Солка, що містить знижену дозу ІПВ

№	Компоненти, що входять до складу вакцини	Склад 5А	Склад 5В	Склад 5С	Склад 5D	Склад 5Е	Склад 5F	Склад 5G	Склад 5H
1	Дифтерійний анатоксин (D)	22,5 Lf							
2	Правцевий анатоксин (Т)	7,5 Lf							
3	Інактивованій антиген В. pertussis (цК)	15 IOU							
4	Інактивованій поліовірус штаму Солка Тип I (одиниці антигену D)	10	7,5	8	10	10	7,5	5	10
	Тип II (одиниці антигену D)	2	16	2	2	2	16	2	2
	Тип III (одиниці антигену D)	10	10	5	5	12	10	5	16
5	Інактивованій ротавірус (IPB)	10 мкг							
6	Кон'югат H. Influenzae b ПРФ-CRM ₁₉₇	10 мкг вмісту ПРФ							
7	Поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HbsAg)	12,5 мкг							
8	Вміст алюмінію	Не більше 0,9 мг Al ³⁺							
9	2-феноксietанол	3,25 мг							
10	L-гістидин	1,55 мг							
11	ВДІ	У достатній кількості							

Таблиця 13

Склад-6 семивалентної вакцини Солка, що містить знижену дозу ІП

№	Компоненти, що входять до складу вакцини	Склад 6А	Склад 6В	Склад 6С	Склад 6D	Склад 6Е	Склад 6F	Склад 6G	Склад 6H
1	Дифтерійний анатоксин (D)	22,5 Lf							
2	Правцевий анатоксин (Т)	7,5 Lf							
3	Інактивованій антиген В. pertussis (цК)	15 IOU							
4	Інактивованій поліовірус штаму Солка Тип I (одиниці антигену D)	10	7,5	8	10	10	7,5	5	10
	Тип II (одиниці антигену D)	2	16	2	2	2	16	2	2
	Тип III (одиниці антигену D)	10	10	5	5	12	10	5	16
5	Інактивованій ротавірус (IPB)	10 мкг							

Склад-6 семивалентної вакцини Солка, що містить знижену дозу ІП

№	Компоненти, що входять до складу вакцини	Склад 6А	Склад 6В	Склад 6С	Склад 6D	Склад 6Е	Склад 6F	Склад 6G	Склад 6H
6	Кон'югат Н. Influenzae b ПРФ-СА	5 мкг вмісту ПРФ							
7	Поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HbsAg)	12,5 мкг							
8	Вміст алюмінію	Не більше 0,9 мг Al ³⁺							
9	2-феноксиетанол	3,25 мг							
10	L-гістидин	1,55 мг							
11	ВДІ	У достатній кількості							

Таблиця 14

Склад-7 семивалентної вакцини Себіна, що містить знижену дозу ІПВ

№	компоненти, що входять до складу вакцини	Склад 7А	Склад 7В	Склад 7С
1	Дифтерійний анатоксин (D)	22,5 Lf		
2	Правцевий анатоксин (Т)	7,5 Lf		
3	Інактивованій антиген В. pertussis (цК)	15 IOU		
4	Інактивованій поліовірус штаму Себіна			
	Тип I (одиниці антигену D)	5	2,5	5
	Тип II (одиниці антигену D)	16	8	8
	Тип III (одиниці антигену D)	10	5	10
5	Інактивованій ротавірус (IPB)	10 мкг		
6	Кон'югат Н. Influenzae b ПРФ-CRM ₁₉₇	10 мкг вмісту ПРФ		
7	Поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HbsAg)	12,5 мкг		
8	Вміст алюмінію	Не більше 0,9 мг Al ³⁺		
9	2-феноксиетанол	3,25 мг		
10	L-гістидин	1,55 мг		
11	ВДІ	У достатній кількості		

Таблиця 15

Склад-8 семивалентної вакцини Себіна, що містить знижену дозу ІПВ

№	компоненти, що входять до складу вакцини	Склад 8А	Склад 8В	Склад 8С
1	Дифтерійний анатоксин (D)	22,5 Lf		
2	Правцевий анатоксин (Т)	7,5 Lf		
3	Інактивованій антиген В. pertussis (цК)	15 IOU		
4	Інактивованій поліовірус штаму Себіна			
	Тип I (одиниці антигену D)	5	2,5	5
	Тип II (одиниці антигену D)	16	8	8
	Тип III (одиниці антигену D)	10	5	10
5	Інактивованій ротавірус (IPB)	10 мкг		
6	Кон'югат Н. Influenzae b ПРФ-СА	5 мкг вмісту ПРФ		
7	Поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HbsAg)	12,5 мкг		
8	Вміст алюмінію	Не більше 0,9 мг Al ³⁺		
9	2-феноксиетанол	3,25 мг		
10	L-гістидин	1,55 мг		
11	ВДІ	У достатній кількості		

Приклад 12: Нижче наведений спосіб одержання композицій семивалентної комбінованої вакцини, що містить знижену дозу ІПВ, інактивованій ротавірус, D, Т, цК, НВsAg і кон'югат ХіБ ПРФ-білок:

5 а) Здійснювали індивідуальну адсорбцію матеріалу ІПВ (штам Себіна/Солка) і матеріалу ІРВ на гідроксиді алюмінію при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,2-6,6.

б) Здійснювали адсорбцію НВsAg на фосфаті алюмінію при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,0-6,5.

с) Здійснювали адсорбцію D на фосфаті алюмінію при подальшому встановленні значення рН на рівні 5,5-6,5 і додаванні Т.

10 д) Розчини, одержані на стадіях б і с, об'єднували при подальшому перемішуванні при кімнатній температурі протягом 18-24 годин.

е) Додавали зазначені вище суміші [одержані на стадіях а і д] при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,4-6,6 і перемішуванні при кімнатній температурі протягом 60 хвилин.

15 ф) До зазначеної вище суміші додавали цК і гістидин при подальшому перемішуванні протягом 60 хвилин, після чого суміш залишали в статичному стані на ніч при температурі 2-8 °С.

г) До суміші, одержаної на стадії f, додавали кон'югат ХіБ ПРФ і 2-ФЕ при температурі 2-8 °С при подальшому встановленні значення рН на рівні 6,4-6,6.

20 h) До суміші, одержаної на стадії g, додавали NaCl и ВДІ (у достатній кількості) при подальшому перемішуванні протягом 2 годин.

Кон'югат ХІБ ПРФ-білок, який був одержаний з використанням нового процесу кон'югування і згодом підданий змішуванню при низькій температурі в присутності стабілізатора, демонструє більш високу стабільність при мінімальному вивільненні вільного ПРФ і підвищеній імуногенності. Крім того додавання цільноклітинного кашлюкового антигену в суміш на більш пізній стадії забезпечує зведення до мінімуму деградації шляхом гідролізу і гарантує одержання стабільного і імуногенного антигену цК.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

30

1. Комбінована вакцина, що містить:

i) інактивованій поліовірусний (ІПВ) антиген, вибраний зі штаму Солка або Себіна;

ii) інактивованій ротавірусний (ІРВ) антиген;

iii) ад'ювант - гідроксид алюмінію,

35 в якій інактивованій поліовірусний антиген вибраний з групи, що включає:

а) дозовану композицію, що містить комбінацію штамів Себіна Типу 1, Типу 2, Типу 3, вибрану з 5-16-10 одиниць антигену D,

б) дозовану композицію, що містить комбінацію штамів Себіна Типу 1, Типу 2, Типу 3, вибрану з 2,5-8-5 одиниць антигену D,

40 с) дозовану композицію, що містить комбінацію штамів Себіна Типу 1, Типу 2, Типу 3, вибрану з 5-8-10 одиниць антигену D,

д) дозовану композицію, що містить комбінацію штамів Солка Типу 1, Типу 2, Типу 3, вибрану з 7,5-16-10 одиниць антигену D,

45 е) дозовану композицію, що містить комбінацію штамів Солка Типу 1, Типу 2, Типу 3, вибрану з 8-2-5 одиниць антигену D,

ф) дозовану композицію, що містить комбінацію штамів Солка Типу 1, Типу 2, Типу 3, вибрану з 10-2-5 одиниць антигену D,

г) дозовану композицію, що містить комбінацію штамів Солка Типу 1, Типу 2, Типу 3, вибрану з 10-2-10 одиниць антигену D,

50 h) дозовану композицію, що містить комбінацію штамів Солка Типу 1, Типу 2, Типу 3, вибрану з 10-2-12 одиниць антигену D,

і) дозовану композицію, що містить комбінацію штамів Солка Типу 1, Типу 2, Типу 3, вибрану з 10-2-16 одиниць антигену D,

55 j) дозовану композицію, що містить комбінацію штамів Солка Типу 1, Типу 2, Типу 3, вибрану з 5-2-5 одиниць антигену D; і

де інактивованій антиген поліовірусу адсорбований на ад'юванті - гідроксиді алюмінію, що має загальну концентрацію Al^{3+} 0,1-1 мг/0,5 мл доза та відсоток адсорбції гідроксиду алюмінію в діапазоні 90-99 %,

60 де інактивованій ротавірусний антиген є термічно інактивованим штамом ротавірусу CDC-9, адсорбованим на ад'юванті - гідроксиді алюмінію, що має загальну концентрацію Al^{3+} 0,1-1

мг/0,5 мл доза та відсоток адсорбції гідроксиду алюмінію в діапазоні 90-99 %, і інактивований ротавірусний антиген присутній у кількості 10 мкг/0,5 мл доза, де комбінована вакцина є бівалентною вакциною.

- 5 2. Вакцина за п. 1, яка **відрізняється** тим, що комбінована вакцина додатково містить один або більше антигенів, вибраних із групи, що складається з дифтерійного анатоксину (D), правцевого анатоксину (Т), цільноклітинного кашлюка (цК), поверхневого антигену гепатиту В (HBsAg), кон'югату *H. influenzae* типу b (Hib) ПРФ - білок-носії.
- 10 3. Вакцина за п. 2, в якій інактивований поліовірусний антиген адсорбований на ад'юванті - гідроксиді алюмінію, що має в концентрації Al^{3+} 0,1-1 мг/доза і відсоток адсорбції інактивованого поліовірусного антигену щонайменше 70 %.
- 15 4. Вакцина за п. 2, в якій антигени дифтерійного анатоксину (D) і правцевого анатоксину (Т) адсорбовані на ад'юванті - фосфаті алюмінію.
- 5 5. Вакцина за п. 2, в якій цільноклітинний кашлюковий антиген являє собою інактивований цільноклітинний кашлюковий компонент, що містить один або кілька штамів *Bordetella pertussis* 134, 509, 25525 і 6229, змішаних у співвідношенні 1:1:0,25:0,25.
- 15 6. Вакцина за п. 2, в якій антиген Hib являє собою полісахарид Hib ПРФ, кон'югований з білком-носієм з використанням кон'югації на основі ціанілювання, в якій агент ціанілювання являє собою тетрафторборат 1-ціано-4-диметиламінопіридинію (ЦДАП); а білок-носії являє собою CRM197.
- 20 7. Вакцина за п. 2, в якій антиген HBsAg являє собою поверхневий антиген вірусу гепатиту В, індивідуально адсорбований на фосфаті алюмінію.
8. Вакцина за п. 2, яка містить 2-феноксіетанол як консервант.
- 25 9. Вакцина за п. 2, де вакцина є гексавалентною вакциною, що містить D, Т, цК, Hib В, ІПВ та ІРВ, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 IOU; інактивований поліовірус штаму Солка, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 10 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 міститься у кількості 2 одиниці антигену D, поліовірус Типу 3 міститься у кількості 10 або 16 одиниць антигену D; ІРВ міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-ТА міститься у кількості 5 мкг вмісту ПРФ; загальний вміст алюмінію (Al^{3+}) становить не більше 0,9 мг; 2-феноксіетанол міститься у
- 30 кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг.
10. Вакцина за п. 2, де вакцина є гексавалентною вакциною, що містить D, Т, цК, Hib В, ІПВ та ІРВ, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 IOU; інактивований поліовірус штаму Солка, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 10 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 міститься у кількості 2 одиниці антигену D, поліовірус Типу 3 міститься у кількості 10 або 16 одиниць антигену D; ІРВ міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM197 міститься у кількості 10 мкг вмісту ПРФ; загальний вміст алюмінію (Al^{3+}) становить не більше 0,9 мг; 2-феноксіетанол міститься у
- 35 кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг.
11. Вакцина за п. 2, де вакцина є гексавалентною вакциною, що містить D, Т, цК, Hib В, ІПВ та ІРВ, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 IOU; інактивований поліовірус штаму Себіна, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 5 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 міститься у кількості 16 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 міститься у кількості 10 одиниць антигену D; ІРВ міститься у
- 40 кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-ТТ міститься у кількості 5 мкг вмісту ПРФ; загальний вміст алюмінію (Al^{3+}) становить не більше 0,9 мг; 2-феноксіетанол міститься у
- 45 кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг.
12. Вакцина за п. 2, де вакцина є гексавалентною вакциною, що містить D, Т, цК, Hib В, ІПВ та ІРВ, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 IOU; інактивований поліовірус штаму Себіна, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 5 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 міститься у кількості 16 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 міститься у кількості 10 одиниць антигену D; ІРВ міститься у
- 50 кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM197 міститься у кількості 10 мкг вмісту ПРФ; загальний вміст алюмінію (Al^{3+}) становить не більше 0,9 мг; 2-феноксіетанол міститься у
- 55 кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг.
13. Вакцина за п. 2, де вакцина є гептавалентною вакциною, що містить D, Т, цК, Hib В, HBsAg, ІПВ та ІРВ, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 IOU; інактивований поліовірус штаму Солка, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 10 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 міститься у кількості 2
- 60 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 міститься у кількості 10 або 16 одиниць антигену D; ІРВ міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-ТТ міститься у кількості 5 мкг

вмісту ПРФ; поверхневий антиген гепатиту В (HBsAg) міститься у кількості 12,5 мкг; загальний вміст алюмінію (Al^{3+}) становить не більше 0,9 мг; 2-феноксіетанол міститься у кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг.

5 14. Вакцина за п. 2, де вакцина є гептавалентною вакциною, що містить D, Т, цК, Hib В, HBsAg, ІПВ та ІРВ, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 ІОУ; інактивований поліовірус штаму Солка, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 10 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 міститься у кількості 2 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 міститься у кількості 10 або 16 одиниць антигену D; ІРВ міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM197 міститься у кількості 10 мкг вмісту ПРФ; поверхневий антиген гепатиту В (HBsAg) міститься у кількості 12,5 мкг; загальний вміст алюмінію (Al^{3+}) становить не більше 0,9 мг; 2-феноксіетанол міститься у кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг.

15 15. Вакцина за п. 2, де вакцина є гептавалентною вакциною, що містить D, Т, цК, Hib В, HBsAg, ІПВ та ІРВ, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 ІОУ; інактивований поліовірус штаму Себіна, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 5 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 міститься у кількості 16 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 міститься у кількості 10 одиниць антигену D; ІРВ міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-ТТ міститься у кількості 5 мкг вмісту ПРФ; поверхневий антиген гепатиту В (HBsAg) міститься у кількості 12,5 мкг; загальний вміст алюмінію (Al^{3+}) становить не більше 0,9 мг; 2-феноксіетанол міститься у кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг.

20 16. Вакцина за п. 2, де вакцина є гептавалентною вакциною, що містить D, Т, цК, Hib В, HBsAg, ІПВ та ІРВ, в якій D міститься у кількості 22,5 Lf; Т міститься у кількості 7,5 Lf; цК міститься у кількості 15 ІОУ; інактивований поліовірус штаму Себіна, що характеризується зниженою дозою, Типу 1 міститься у кількості 5 одиниць антигену D, поліовірус Типу 2 міститься у кількості 16 одиниць антигену D, поліовірус Типу 3 міститься у кількості 10 одиниць антигену D; ІРВ міститься у кількості 10 мкг; кон'югат *H. influenzae* типу b ПРФ-CRM197 міститься у кількості 10 мкг вмісту ПРФ; поверхневий антиген гепатиту В (HBsAg) міститься у кількості 12,5 мкг; загальний вміст алюмінію (Al^{3+}) становить не більше 0,9 мг; 2-феноксіетанол міститься у кількості 3,25 мг; L-гістидин міститься у кількості 1,55 мг.

25 17. Вакцина за пп. 1-16, де вакцина містить допоміжні речовини, вибрані з групи, що включає гістидин, сахарозу, гліцин та хлорид натрію.

30 18. Вакцина за п. 17, де допоміжною речовиною є гістидин, що присутній у концентрації від 5 до 40 мМ.

35 19. Вакцина за п. 18, де допоміжною речовиною є гістидин, що присутній у концентрації 20 мМ.

20. Спосіб одержання комбінованої вакцини за п. 1, що включає такі стадії:

а) індивідуальна адсорбція матеріалів ІПВ та ІРВ на гідроксиді алюмінію;

40 б) змішування одновалентних матеріалів ІПВ і ІРВ та витримання суміші при температурі 2-8 °С на хиткій платформі протягом 2 годин.

21. Спосіб одержання шестивалентної вакцини за пп. 9-12, що включає такі стадії:

а) індивідуальна адсорбція матеріалу ІПВ і матеріалу ІРВ на гідроксиді алюмінію з подальшим встановленням значення рН на рівні 6,2-6,6, більш переважно 6,5;

45 б) адсорбція D на фосфаті алюмінію з подальшим встановленням значення рН на рівні 5,5-6,5 і додаванні Т та змішуванні шляхом перемішування при кімнатній температурі протягом 18-24 годин;

с) змішування розчинів, одержаних на стадіях а) і б), з подальшим встановленням значення рН на рівні 6,4-6,6 і перемішування при кімнатній температурі протягом 60 хвилин;

50 д) додавання до зазначеної вище суміші антигену цК і стабілізатора з подальшим перемішуванням протягом 60 хвилин, після чого суміш залишають в статичному стані на ніч при температурі 2-8 °С;

е) додавання до суміші, одержаної на стадії d), кон'югату Hib ПРФ і 2-ФЕ при температурі 2-8 °С з подальшим встановленням значення рН на рівні 6,4-6,6;

ф) додавання до суміші, одержаної на стадії e), у достатній кількості NaCl і ВДІ з подальшим перемішуванням протягом 2 годин.

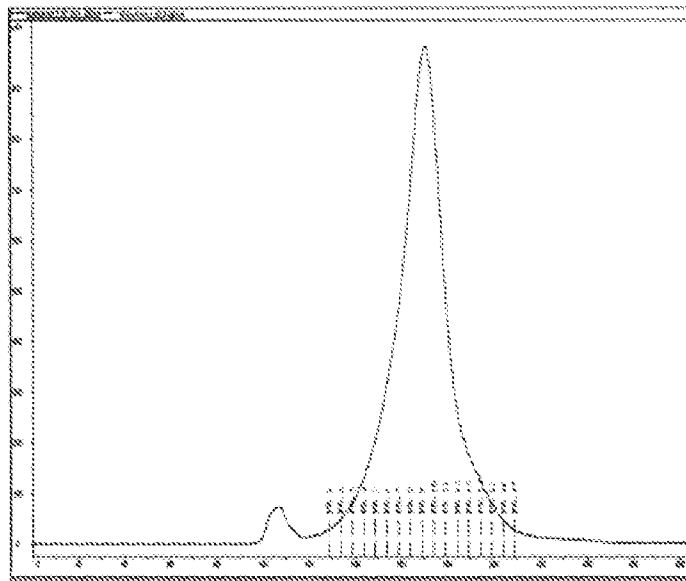
55 22. Спосіб одержання семивалентної вакцини за пп. 13-16, що включає такі стадії:

а) індивідуальна адсорбція матеріалу ІПВ і матеріалу ІРВ на гідроксиді алюмінію з подальшим встановленням значення рН на рівні 6,2-6,6;

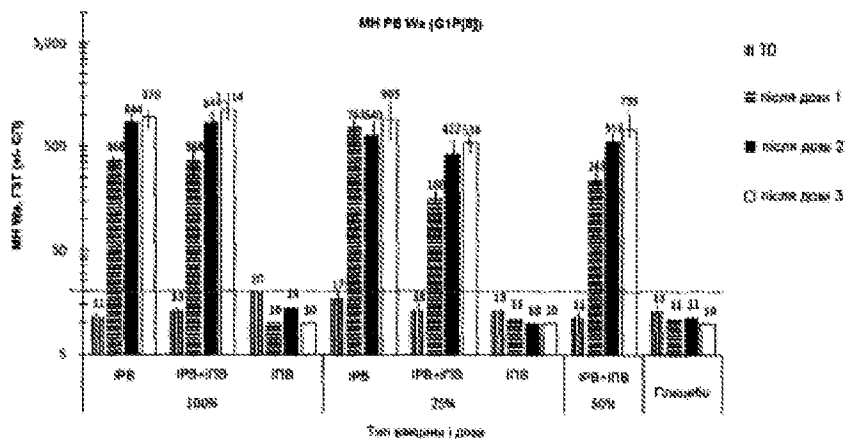
б) адсорбція HBsAg на фосфаті алюмінію з подальшим встановленням значення рН на рівні 6,0-6,5;

- с) адсорбція D на фосфаті алюмінію з подальшим встановленням значення рН на рівні 5,5-6,5 і додавання Т;
- d) об'єднання сумішей, одержаних на стадіях b) і c), шляхом перемішування при кімнатній температурі протягом 18-24 годин;
- 5 е) додавання зазначених вище сумішей, одержаних на стадіях a) і d) з подальшим встановленням значення рН на рівні 6,4-6,6, і перемішування при кімнатній температурі протягом 60 хвилин;
- 10 f) додавання до зазначеної вище суміші антигену цК і стабілізатора з подальшим перемішуванням протягом 60 хвилин, після чого суміш залишають в статичному стані на ніч при температурі 2-8 °С;
- g) додавання до суміші, одержаної на стадії d), кон'югату НіВ ПРФ і 2-ФЕ при температурі 2-8 °С з подальшим встановленням значення рН на рівні 6,4-6,6;
- h) додавання до суміші, одержаної на стадії e), у достатній кількості NaCl і ВДІ при подальшому перемішуванні протягом 2 годин.

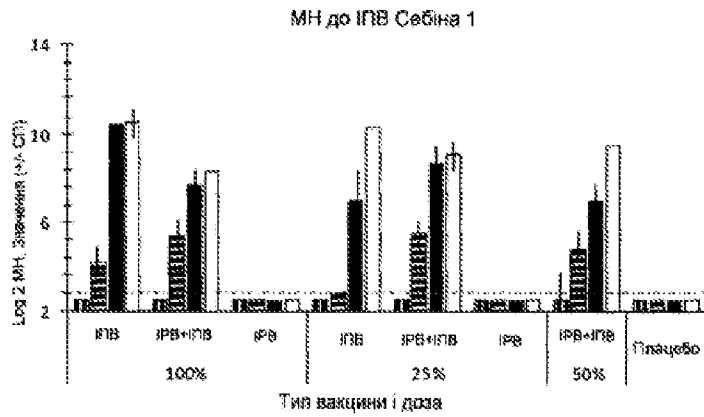
Вісь X: об'єм (мл);
вісь Y: УФ при 280 нм (мЕОП)



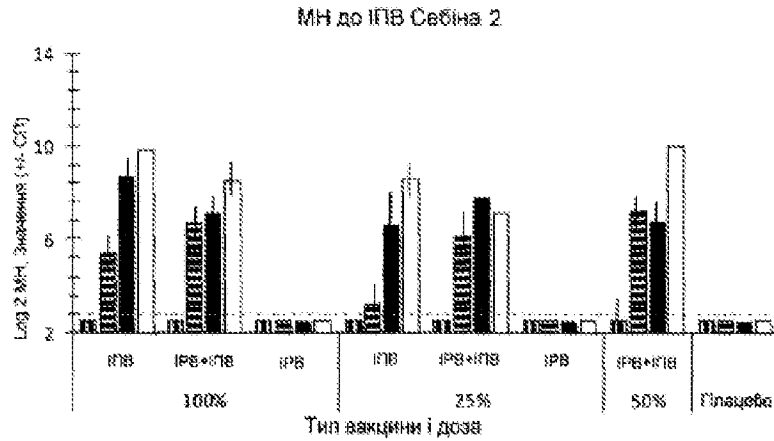
Фіг. 1



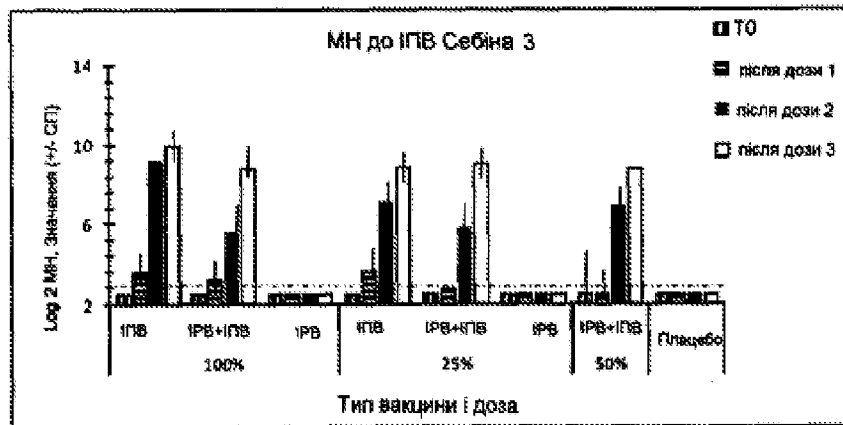
Фіг. 2



Фіг. 3



Фіг. 4



Фіг. 5