



MD 4890 B1 2024.04.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4890** (13) **B1**
(51) Int.Cl.: *A61K 39/00* (2015.01)
A61K 39/02 (2015.01)
A61K 39/13 (2015.01)
A61K 39/29 (2015.01)
A61P 31/00 (2013.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2021 0028 (22) Data depozit: 2019.10.04 (31) Nr.: 201821038850 (32) Data: 2018.10.12 (33) Țara: IN (41) Data publicării cererii: 2021.11.30, BOPI nr. 11/2021	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2024.04.30, BOPI nr. 4/2024 (85) 2021.05.06 (86) PCT/IN2019/050737, 2019.10.04 (87) WO 2020/075184 A1, 2020.04.16
(71) Solicitant: SERUM INSTITUTE OF INDIA PRIVATE LTD, IN (72) Inventatori: SHARMA Inder Jit, IN; RAKESH Kumar, IN; KILVANI Jaganathan Semburakkianan, IN; DODDAPANENI Manohar, IN; SHITOLE Anil Vyankatrao, IN (73) Titular: SERUM INSTITUTE OF INDIA PRIVATE LTD, IN (74) Mandatar autorizat: GLAZUNOV Nicolae	

(54) Compoziție de vaccin combinat, care conține o doză redusă de poliovirus inactivat, și procedeu de preparare a acesteia

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la o compoziție imunogenică complet lichidă, care include o combinație de antigeni/imunogeni. Compoziția imunogenică include o cantitate optimă de antigeni/imunogeni pentru asigurarea protecției împotriva unui șir de boli. Compoziția

2
manifestă imunogenicitate și stabilitate îmbunătățite. De asemenea, prezenta invenție se referă la un procedeu de preparare a compoziției de vaccin.

Revendicări: 26

MD 4890 B1 2024.04.30

(54) Combination vaccine composition comprising reduced dose inactivated poliovirus and method for preparing the same

(57) Abstract:

1
The present invention relates to a fully liquid immunogenic composition comprising a combination of antigens/immunogens. The immunogenic composition comprises optimum amount of antigens/immunogens to confer protection against a number of diseases. The

2
composition exhibits improved immunogenicity and stability. The present invention also relates to a process for preparing the vaccine composition.

Claims: 26

(54) Композиция комбинированной вакцины, которая содержит уменьшенную дозу инактивированного полиовируса и способ ее приготовления

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к полностью жидкой иммуногенной композиции, которая включает комбинацию антигенов/иммуногенов. Иммуногенная композиция включает оптимальное количество антигенов/иммуногенов для

2
обеспечения защиты от ряда заболеваний. Композиция проявляет улучшенные иммуногенность и стабильность. Также настоящее изобретение относится к способу приготовления вакцинной композиции.

П. формулы: 26

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

5 Invenția se referă la domeniul biotehnologiei, în particular, ea se referă la o metodă de pregătire a compoziției de vaccin combinat cu doze multiple, care include un grup de antigeni/imunogeni și conservant. Prezenta invenție în continuare se referă la o metodă îmbunătățită în domeniul producerii vaccinului combinat.

10 Un vaccin combinat care poate oferi imunogenitate împotriva unui număr larg de boli este mereu avantajos față de un vaccin monovalent, deoarece el reduce numărul de vaccinuri administrate, reduce complicațiile asociate cu injecțiile intramusculare multiple, reduce costurile de administrare și producere, micșorează costurile de stocare, reduce riscul vaccinărilor întârziate sau ratate și îmbunătățește complianța pacientului prin reducerea numărului de vaccinări separate. În plus, preparatele complet lichide ale vaccinului combinat au avantaje distincte peste acelea care necesită reconstituirea. Timpul mediu de pregătire se dovedește a fi aproape jumătate pentru vaccinul complet lichid comparat cu
15 vaccinul care nu este complet lichid. Aproape tot personalul medical (97,6%) a stabilit că ei ar prefera utilizarea vaccinului complet lichid în practica lor de zi cu zi. (Soubeyrand B. et al. Assessment of preparation time with fully-liquid versus non-fully liquid paediatric hexavalent vaccines. A time and motion study; Vaccine, 2015, vol. 33, p. 3976-3982).

20 Vaccinurile combinate disponibile și cunoscute în prezent nu pot conține formulări potrivite de antigeni potriviți în forme imunogenice potrivite pentru atingerea nivelelor dorite de siguranță, eficacitate și imunogenicitate într-o populație umană susceptibilă pentru un număr de boli într-o singură administrare. Numărul diferitor combinații de vaccinuri care pot fi create cu doar câțiva antigeni suplimentari este considerabil. Prin adăugarea de 1-4 alte componente antigenice (de ex. HIB (liofilizat sau lichid), HBV, IPV, HAV) la oricare DTwP sau DTaP, sunt 44 de combinații de vaccinuri posibile
25 diferite care pot fi generate. Numărul ar crește la sute dacă componentele individuale de la diferiți producători au fost luate în considerare. Deoarece fiecare vaccin combinat nou individual (ținând cont de diferențele în componenți conform sursei) trebuie dezvoltat separat pentru a demonstra siguranță, stabilitate, compatibilitate și eficacitate, dezvoltarea tuturor acestor vaccinuri devine o sarcină provocatoare.

30 Antigenii vaccinului combinat**Antigenii difteriei și tetanosului**

Difteria și tetanosul sunt infecții acute cauzate de *Corynebacterium diphtheriae* și *Clostridium tetani*, respectiv. În ambele cazuri este o exotoxină potentă al acestor bacterii care este responsabilă pentru boala clinică. Vaccinurile care oferă protecție împotriva acestor bacterii conțin toxine care sunt modificate
35 chimic pentru a forma toxoizi, o toxină chimic modificată care nu mai este toxică, dar este încă antigenică. Toxinele difteriei și tetanosului sunt produse prin creșterea *Corynebacterium diphtheriae* și *Clostridium tetani*, într-un mediu ce conține extract bovin. Toxinele sunt inactivate folosind următorul tratament care include: termal, UV, formalină/formaldehidă, glutaraldehidă, acetiletilenimină, etc. pentru crearea toxozidilor (Toxoid difteric (D) și Toxoid tetanos (T)). Preocupările cu privire la encefalopatia spongiformă bovină (BSE), encefalopatia spongiformă transmisibilă (TSE), boala Creutzfeldt-Jakob (CJD și variantele bolilor CJD) pot apărea de la componentele animale folosite în mediul de creștere ce conține
40 extract bovin răspândindu-se prin vaccin (WHO Guidelines on Transmissible Spongiform Encephalopathies in relation to Biological and Pharmaceutical Products, 2003 & EMEA/CPMP/BWP/819/01, 24 April 2001).

45 Antigeni pertussis

Introducerea de vaccinuri cu celule întregi compuse din organisme de *Bordetella pertussis* inactivate chimic sau prin încălzire, care în anii 1940 a fost responsabilă pentru o reducere dramatică în incidența de
tună convulsivă cauzată de *B. pertussis*.

50 Vaccinurile DTP cu celule întregi sunt frecvent asociate cu mai multe efecte adverse locale (de ex., eritem, inflamație, și durere în locul injectării), febră, și alte evenimente sistemice ușoare (de ex., somnolență, iritabilitate, și anorexie) (Cody C.L., Baraff L.J., Cherry J.D., Marcy S.M., Manclark C.R. The nature and rate of adverse reactions associated with DTP and DT immunization in infants and children. Paediatrics, 1981, vol. 68, p. 650-660) & (Long S.S., DeForest A., Penridge Pediatric Associates, et al. Longitudinal study of adverse reactions following Diphtheria-tetanus-pertussis vaccine in infancy. Paediatrics, 1990, vol. 85, p. 294-302). Efecte sistemice mai severe (de ex., convulsii {cu sau
55 fără febră} și episoade hipotonice hiporesponsive) apar mai rar (raport de 1 caz la 1,750 doze administrate) printre copiii care primesc vaccina DTP cu celule întregi (Cody C.L., Baraff L.J., Cherry J.D., Marcy S.M., Manclark C.R. The nature and rate of adverse reactions associated with DTP and DT

immunization in infants and children. Paediatrics, 1981, vol. 68, p. 650-660). Encefalopatia acută apare chiar mai rar (raport de 0...10,5 cazuri la un milion de doze administrate). Experții sunt de acord că vaccinul pertussis cu celule întregi provoacă leziuni cerebrale de durată în unele cazuri rare (Institute of Medicine; DPT vaccine and chronic nervous system dysfunction, a new analysis; Washington D.C., National Academy Press, 1994).

Mai multe rapoarte citează o relație între vaccinarea cu pertussis cu celule întregi, reactogenitate și efectele secundare serioase care au dus la un declin în acceptarea vaccinului și epidemiile reinnoite în consecință (Miller D.L., Ross E.M., Alderslade R., Bellman M.H., and Brawson N.S.B. Pertussis immunization and serious acute neurological illness in children: Brit. Med. J. 1981, vol. 282, p. 1595-1599).

Reacțiile adverse asociate cu pertussis cu celule întregi (wP) sunt o piedică pentru utilizarea lor continuă la nivel mondial și prin urmare vaccinurile combinate bazate pe wP au fost treptat înlocuite în lumea industrializată prin vaccinurile combinate bazate pe pertussis acelular.

Mai recent, un vaccin cu component definit contra pertussis a fost dezvoltat. Toate vaccinurile hexavalente lichide pe bază de pertussis acelular (DTaP IPV PRP-T-HBsAg) au fost raportate anterior [1].

Infanrix® Hexa (GSK) este în prezent singurul vaccin pediatric combinat hexavalent comercializat la nivel global ce conține Salk IPV. Acest produs (DTaP3 -IPV-HBV//Hib) este vândut ca o seringă preîmplută a produsului pentavalent co-ambalat cu un antigen PRP-T Hib leofilizat conjugat într-o fiolă separată pentru a fi reconstituită cu restul vaccinului înainte de utilizare.

Al doilea vaccin hexavalent, Hexyon® (numit și Hexacima® și Hexaxim®) este un hexavalent total lichid de la Sanofi Pasteur; totuși este de asemenea cu aP. Acest vaccin probabil este destinat pentru piețele private din Europa și la nivel mondial.

Un vaccin combinat heptavalent este în curs de dezvoltare de Bharat Biotech International care constă din DT, pertussis acelular, Sabin IPV (tip 1: 40 DU, tip 2: 8 DU, tip 3: 32 DU), o singură tulpină inactivată de rotavirus (tulpina G9, adică tulpină 116E), un conjugat al gripei *Haemophilus* de tip b PRP conjugat la TT și un vaccin recombinant împotriva hepatitei B.

Totuși au apărut preocupări privind eficacitatea pe termen lung al vaccinului pertussis acelular (aP), în special în condițiile țărilor în curs de dezvoltare. Rapoartele recente sugerează că imunitatea la pertussis scade în adolescență și că acesta este responsabil pentru o creștere de cazuri la copii sub vârsta de șase luni, înainte ca ei să fie complet vaccinați. Eficacitatea vaccinului a fost estimată de a fi 24 procente la cei de la 8 la 12 ani imunizați în pruncie cu aP. Un studiu observațional în Australia de asemenea a arătat o rată mai înaltă de cazuri printre adolescenții cărora li s-a administrat vaccinul aP în pruncie decât printre cei cărora li s-a administrat vaccinul wP (risc relativ de 3,3, 95 procente, interval de încredere 2,4...4,5).

Din perspectiva costurilor, antigenii aP au depășit istoric costul antigenilor wP cu un factor de la 10 la 30 datorită diferențelor de producere și costurile dreptului de autor și deci constituie o povară economică pentru dezvoltarea țărilor. Ca urmare, costul vaccinilor hexavalente bazate pe wP va fi mai potrivit pentru utilizare în sectorul public al țărilor cu resurse reduse.

Prin urmare, utilizarea pertussis cu celule întregi (wP) în vaccinul hexavalent destinat pentru țările în curs de dezvoltare a devenit important din cauza costului și preocupărilor apărute privind eficacitatea pe termen lung al vaccinului aP, în special în condițiile țărilor în curs de dezvoltare.

Comparat cu cele mai bune vaccinuri pertussis cu celule întregi, Vaccinurile aP nu sunt la fel de eficiente în programele de imunizare în masă (Vickers et al., 2006; Cherry, 2012).

Studiile recente ale focarelor în populațiile înalt imunizate au arătat că durata protecției a vaccinilor aP este prea scurtă (Klein et al. 2012; Misegades et al., 2012), rezultând într-o descreștere a imunității la copii mai mari și adolescenți, și o creștere corespunzătoare de cazuri în acest grup de vârstă (Skowronski et al., 2002; Klein et al., 2012). Aceasta este în contrast cu vaccina wP, care oferă protecție bună în anii adolescenței (Klein et al., 2012). Ca urmare a acestor neajunsuri, în țările care au trecut la vaccinul aP în anii 1990 acum avem o generație de copii nu doar mai puțin protejată împotriva pertussis, dar care poate, de asemenea, fi mai puțin receptivi la rapel, deoarece vaccinul care este administrat la un copil poate determina răspunsul lor imunitar la vaccinarea mai târzie de rapel (Podda et al., 1995; Mascart et al., 2007; Sheridan et al., 2012; Liko, Robison and Cieslak, 2013; Smits et al., 2013).

Unul din cei mai importanți factori care contribuie la reactogenitatea wP este prezența lipozaharidelor (LOS), endotoxinelor din membrana externă bacteriană.

Inactivarea toxinei în vaccina wP poate fi realizată prin metode variate, dar toxina labila la încălzire activă nu ar trebui să fie detectată în produsul final. Procesul global de pertussis celular (wP) pentru inactivarea toxinei wP practicat de mulți producători include tratamentul termic/formalina. Mai multe rapoarte citează utilizarea Thimerosal-ului pentru inactivarea wP. Totuși, utilizarea Thimerosal-ului

provoacă pierderea antigenicității IPV (Deleterious effect of thimerosal on the potency of inactivated poliovirus vaccine. *Vaccine*. 1994, vol. 12, no 9, p. 851-856), și prin urmare în cazul unui vaccin combinat care conține IPV, poate fi necesar de prezentat într-o fiolă separată de Thimerosal ce conține wP ca să-și păstreze potența în timp sau schimbarea sursei de inactivare masivă a pertussis. Unii antigeni, de ex. PT active, pot de asemenea servi ca modificatori ai răspunsului imun, și diferențe semnificative în răspunsuri imune la variați antigeni între diferite vaccinuri au fost observate (WHO, 1993).

Extracția chimică a LOS rezultată într-o scădere semnificativă a conținutului de endotoxină (20%) și un declin surprinzător a toxicității endotoxinei asociate (până la 97%), în funcție de testul *in vitro* sau *in vivo* utilizat. Extracția LOS n-a afectat integritatea produsului și, mai important, n-a afectat potența și/sau stabilitatea DTP. În plus, nu s-au observat diferențe în răspunsurile anticorpilor și T-celulelor (Waldely Oliveira Dias et. Al. An improved whole cell pertussis vaccine with reduced content of endotoxin. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. February 2012, vol. 9, no 2, p. 339-348)

Antigenii hepatitelor B

Există diverse tulpini ale virusului de hepatită. Hepatita B este o boală cauzată de virusul hepatitei B (HepB) care infectează ficatul oamenilor, și provoacă o inflamație numită hepatita. Vaccinul împotriva bolii conține una din proteinele învelișului viral, antigenul de suprafață a hepatitei B (HBsAg). Vaccinurile care au fost folosite pentru imunizarea în masă sunt acum disponibile, de exemplu produsul Recombivax HB® și Comvax® de la Merck, Engerix-B® și Pediarix® de la Glaxo SmithKline Biologicals. Vaccinul combinat având componentul hepatitei B a fost asociat atât cu rezultate mai ridicate de completare, cât și de conformitate în comparație cu vaccinul HepB cu un singur antigen [2]. Unele referințe citează adsorbția antigenului de suprafață a hepatitei B pe fosfat de aluminiu în combinație cu alți antigeni. Hexavac® un vaccin combinat care a fost retras de pe piață datorită imunogenității joase al componentului hepatitei B. Există deci o necesitate de o compoziție de vaccin combinat care include un antigen al hepatitei B cu imunogenicitate adecvată sau îmbunătățită.

Antigenii *Haemophilus influenzae* (Hib)

Haemophilus influenzae este un coccobacil Gram-negativ care este o parte normală a florei tractului respirator superior. *Haemophilus influenzae* de tip b (Hib b) este o cauză majoră a infecțiilor cu meningită invazivă transmisă prin sânge la copiii mici și cauza majoră a meningitei în primii 2 ani de viață. Imunizarea împotriva *Haemophilus influenzae* a început în Canada în 1987 cu un vaccin polizaharidic (fosfat de poliriboză ribitol (PRP)). Capsula de fosfat de poliribosilribitol (PRP) a Hib este un factor major al virulenței pentru organism. Anticorpul la PRP este factorul primar la activitatea bactericidă serică, și creșterea nivelurilor de anticorpi sunt asociate cu scăderea riscului de boală invazivă. PRP este un antigen independent al T-celulelor și prin urmare este caracterizat prin a) inducția unui răspuns slab la anticorpi la sugari și copii cu vârsta sub 18 luni, b) un răspuns variabil și cantitativ mai mic la anticorpi decât cel observat la antigenii dependenți de T-celule, c) producerea unei proporții superioare de imunoglobulină M (IgM), și d) incapacitatea de a induce un răspuns de rapel.

Vaccinul inițial bazat doar pe componentul PRP s-a dovedit a fi inefficient pentru sugari. În continuare eforturile au fost direcționate spre un vaccin conjugat PRP, în care PRP-ul este conjugată la proteina numită proteina purtătoare ca proteina membranei externe a *Neisseria meningitidis*, toxoid difteric, toxoid tetanos și CRM 197. Incluziunea componentelor Hib-conjugate în vaccinurile combinate au fost asociate cu imunogenicitatea Hib redusă. În plus, Hib-conjugate sunt instabili în mediu apos și nu pot supraviețui depozitarea îndelungată în această formă. Prin urmare, polizaharida PRP a *Haemophilus influenzae* b (Hib) este formulată frecvent ca un solid uscat, care este reconstituit în timpul livrării cu o formulare lichidă de alți antigeni. De exemplu în Infanrix® hexa [3].

Antigenul poliomielitei

Diferite feluri de vaccin sunt disponibile:

- Un vaccin viu atenuat (slăbit) oral împotriva virusului de poliomielită (OPV) dezvoltat de Dr. Albert Sabin în 1961. OPV, care include tulpini Sabin, este administrat oral.
- Un vaccin împotriva virusului de poliomielită inactivat (omorât) (IPV) dezvoltat în 1955 de Dr. Jonas Salk. IPV, care include tulpinile Salk, este administrat ca o injecție.
- Recent, virusul de poliomielită Sabin inactivat, care a fost pregătit prin inactivarea tulpinelor de virus de poliomielită Sabin cu formalina, a fost dezvoltat pentru injecție și de asemenea a fost disponibil în produsele comerciale.

Ambele vaccine, vie atenuată (OPV) și inactivată (IPV), împotriva virusului de poliomielită au fost efective în controlul bolii virusului de poliomielită la nivel mondial. Vaccinul împotriva virusului de poliomielită poate include tulpinile Salk sau Sabin.

În 1955, Dr. Jonas Salk a reușit prin inactivarea virusului de poliomielită de tip sălbatic, astfel făcând-o disponibilă într-o formulare de tip injecție, și numind-o ca tulpina Salk, care include Mahoney

de tip 1, MEF de tip 2, și Saukett de tip 3 care au fost folosite în vaccinul împotriva bolii virusului de poliomielită. Tulpinele Sabin includ tulpinele Sabin 1 și Sabin 2.

Doza standard de vaccinuri împotriva virusului de poliomielită acceptată în prezent conține 40 unități de antigen D de virus de poliomielită inactivat de tip 1 (Mahoney), 8 unități de antigen D de virus de poliomielită inactivat de tip 2 (MEF-I) și 32 unități de antigen D de virus de poliomielită inactivat de tip 3 (Saukett) de ex. Infanrix-hexa® [3].

IPV este în prezent disponibil fie ca o formulare neadjuvantă de sine stătătoare, sau în diverse combinații, inclusiv DT-IPV (cu toxoizi difteric și tetanos) și vaccin hexavalent-IPV (în plus cu pertussis, hepatita B, *Haemophilus influenzae* b și adjuvant) de ex. Infanrix® hexa [3].

Totuși, în comparație cu OPV, costul total de producere a IPV este semnificativ mai mare. Acest lucru se datorează în principal cerințelor pentru: (i) mai mult virus per doză; (ii) procesare suplimentară în aval (de ex. concentrarea, purificare și inactivare), și testare QC asociată (iii) pierderea antigenului sau recuperarea slabă în aval și iv) întreruperea. Până în prezent, provocarea financiara a fost un dezavantaj major pentru inovarea IPV și implementarea în țările cu venituri mici și medii.

Viitoarea cerere globală pentru IPV după iradicarea virusului de poliomielită ar putea crește de la nivelul curent de 80 milioane doze la 450 milioane doze pe an. În consecință, este posibil să fie necesare abordări pentru „extinderea” aprovizionării cu IPV.

Solicitanții prezenți au găsit în mod surprinzător că o doză redusă de IPV nu prezintă inferioritate/protecție echivalentă împotriva virusului de poliomielită în comparație cu o doză standard a antigenului IPV. Formulări eficiente de vaccin cu doză redusă care oferă protecție împotriva infecției folosind o doză mai joasă a antigenului IPV sunt de dorit în situațiile în care aprovizionarea cu vaccin convențional este insuficientă pentru a atinge necesitățile globale sau în care costul de fabricație a vaccinului convențional împiedică vânzarea vaccinului la un preț care este accesibil pentru țările în curs de dezvoltare. De asemenea expunerea la doză mai joasă de IPV; comparat cu formulările comerciale existente ar putea fi mai sigură. Astfel diverse strategii de a face IPV-ul disponibil la prețuri mai accesibile trebuie să fie evaluate. Prin urmare un vaccin combinat care include doză redusă IPV ar putea s-o facă în continuare ieftină și ușor de administrat.

În cazul vaccinurilor antigripale pandemice utilizarea adjuvanților a permis reducerea dozei, a crescut disponibilitatea și a redus costul vaccinului. Prin urmare, s-a speculat că o formulare de vaccin adjuvantă a IPV ar reduce costul și de asemenea ar crește numărul de doze IPV disponibile la nivel mondial.

În continuare, sărurile de aluminiu au fost considerate sigure, sunt deja folosite în vaccinurile combinate ce conțin IPV, au cele mai mici obstacole de dezvoltare și sunt ieftine la fabricare. Totuși, adjuvanții din aluminiu nu sunt cunoscuți pentru că permit reducerea semnificativă a dozei.

În plus, antigenul pertussis cu celule întregi prezent în vaccinul hexavalent s-a dovedit a fi un stimulator imun puternic. Datorită efectului stimulator imun al ambilor, adjuvantului fosfat de aluminiu și vaccinului pertussis cu celule întregi, noi presupunem să primim un răspuns imun bun cu doză redusă de IPV.

Alți antigeni

Alți antigeni care pot fi incluși în vaccinul combinat sunt *Haemophilus influenzae* (serotipurile a, c, d, e, f și tulpinile neîncapsulate), hepatita (tulpinile A, C, D, E, F și G), *Neisseria meningitidis* A, B, C, W, X, Y, gripa, pneumococii, streptococii, antraxul, dengue, malaria, rujeola, oreion, rubeola, BCG, encefalita Japoneză, rotavirus, variola, friguri galbene, febră tifoidă, zoster, virus de varicelă și alții.

Gama și tipul de antigeni folosiți într-un vaccin combinat depinde de vârsta populației țintă pentru care trebuie să fie folosite ca sugari, copii mici, copii, adolescenți, și adulți. Cel mai devreme vaccin combinat cunoscut care poate preveni infecțiile provocate de *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, și opțional de virusul de poliomielită inactivat (IPV), și/sau infecției virusul hepatitei B, și/sau *Haemophilus influenzae* de tip B este cunoscut [4], [5], [6], [7], [8], [9].

Totuși, fenomenul bine documentat al competiției antigenice a complicat și împiedicat dezvoltarea vaccinului multivalent. Acest fenomen se referă la observația că la administrarea simultană a mai multor antigeni adesea rezultă un răspuns diminuat la anumiți antigeni în raport cu răspunsul imun la acești antigeni atunci când sunt administrați separat.

Între timp, un vaccin cu doze multiple ar trebui să includă un conservant pentru a evita contaminarea cu microbi dăunători. Pentru produsele de vaccinare exportate în țările slab dezvoltate, vaccinurile cu doze multiple ce conțin un conservant sunt preferate, luând în considerare condițiile țărilor unde vaccinurile trebuie folosite, metodele de distribuție etc. Exemplele de conservanți care au fost folosiți includ clorura de benzetoniu (Phemerol), Thiomersal, fenol, formaldehida și 2-fenoxietanol (2-PE) sunt cunoscute din stadiul anterior. Conservanții potriviți pentru vaccin ar trebui să fie ecologici, efectivi împotriva

bacteriilor precum drojdiile și alți fungi și lipsit de impact negativ asupra efectului imunogen al vaccinului.

Thiomersal-ul este un derivat al etil mercurului care a fost extensiv folosit în multe vaccinuri ca un conservant. Thimerosal-ul a fost cunoscut pentru prevenirea creșterii organismelor contaminante și menținerea condițiilor sterile pe durata de depozitare sau utilizării produselor de vaccinare, și multe vaccinuri combinate, care au obținut Precalificarea WHO (PQ), conțin Thimerosal ca un conservant. Totuși, există anumite rapoarte referitoare la unele reacții alergice (aproximativ 16% din populație) la Thiomersal în principal sub formă de reacții de hipersensibilitate locală de tip întârziat, inclusiv roșeață și umflături la locul injectării.

În continuare, vaccinul inactivat împotriva virusului de poliomielită convențional folosește 2-PE ca un conservant în loc de Thiomersal de când utilizarea Thiomersal-ului ca conservant în vaccinul inactivat împotriva virusului de poliomielită este cunoscut că reduce potența vaccinului cu 50% sau mai mult într-o săptămână chiar și când este depozitat într-un frigider (Deleterious effect of thimerosal on the potency of inactivated poliovirus vaccine. *Vaccine*. 1994, vol. 12, no 9, p. 851-856).

Vaccinurile combinate (inclusiv D, T, wP, Hib, HBsAg, și IPV) de asemenea utilizează 2-PE într-o concentrare de 5 mg/mL [10], [11], [12].

Totuși, s-a constatat că 2-PE are activitate antimicrobiană mai slabă decât Thimerosal-ul împotriva drojdiilor și fungilor în vaccinul combinat bazat pe DPT la 2...8°C. Îmbunătățirea eficacității de conservare a vaccinului combinat prin creșterea cantității de 2-PE cu scopul pentru a atinge criteriile necesare este una din opțiuni. Totuși, creșterea concentrației 2-PE poate cauza probleme de siguranță la copii mici care sunt subiecții care trebuie să primească vaccinurile combinate și ducând astfel la obstacole de reglementare pentru aprobarea de astfel de vaccin(uri).

Prin urmare, va fi avantajos de îmbunătățit eficacitatea conservantă a vaccinului combinat prin combinarea 2-PE cu cel puțin un alt conservant care îndeplinește criteriile de siguranță și reglementare. Exemplele de conservanți în afară de 2-PE care pot fi folosiți includ clorură de benzetoni (Phemerol), esteri parabenici, fenol, formaldehida și sunt cunoscut din stadiul anterior.

Metil- și propilparabenii, alcoolul benzilic s-a constatat că trec testarea antimicrobiană în conformitate cu USP, BP, și EP. În continuare acești conservanți sunt netoxici, dar efectiv. Toxicitatea parabenilor este relativ joasă, datorită ușurinței și rapidității cu care corpul se eliberează singur de aceste medicamente. LD₅₀-ul metil parabenului în șareci intraperitoneal este de 1 g/kg. Un amestec de metil și propil parabeni nu a fost niciodată folosit în vaccinurile comerciale.

Solicitanții prezenți au găsit că eficacitatea de conservare a unui amestec de 2-fenoxietanol și esteri parabenici, (de ex. metil-, propilparabenii) este relativ mai efektivă în comparație cu 2-fenoxietanolul singur.

În continuare solicitanții prezenți au găsit că imunogenicitatea, reactogenitatea, stabilitatea și mentenanța formei potrivite de antigeni într-o compoziție de vaccin combinat depinde de modul în care compoziția a fost formulată să includă:

α) Procesul de producere a antigenilor individuali.

β) Secvența de adiție a antigenilor.

χ) Utilizarea adjuvanților specifici într-o cantitate specifică pentru anumiți antigeni.

δ) Adsorbția individuală sau adsorbția combinată a antigenilor pe adjuvanți, în care adsorbția combinată are avantajele sale în forma ușurinței de operare și disavantaje care include faptul, că primii antigeni preadsorbiți se pot desorbi parțial sau complet pe durata adiției ulterioare a antigenilor. Antigenii adăugați la ultima etapă nu pot fi adsorbiți complet, deoarece antigenii anteriori ar putea satura capacitatea de adsorbție. Antigenii slab adsorbiți se pot desorbi la depozitare.

ε) Gradul de adsorbție a antigenilor pe adjuvanți.

φ) Folosind concentrația minimă de aluminiu.

γ) Folosind concentrația optimă și tipul de conservant.

η) Utilizarea diferitor parametri inclusiv a agitării, temperaturii și pH-ului.

Unele din obiectele prezentei dezvoltării, în care cel puțin un exemplu de realizare aici îl satisface, sunt precum urmează:

Un obiect al prezentei dezvoltării ameliorează una sau mai multe probleme din stadiul anterior sau cel puțin oferă o alternativă utilă.

Un alt obiect al prezentei dezvoltării este de a oferi un vaccin combinat complet lichid potrivit pentru prevenirea și profilaxia infecțiilor cauzate de difterie, tetanos, pertussis, virusul de poliomielită, *Haemophilus influenzae* și hepatita B sau să prevină, amelioreze, sau încetinească debutul sau progresul manifestărilor clinice a acestora.

Un alt obiect al prezentei dezvoltări este de a oferi un vaccin combinat complet lichid ce conține diverse doze reduse de antigeni ai virusului de poliomielită inactivat (IPV) care arată non-inferioritate/protecție echivalentă împotriva virusului de poliomielită în comparație cu a doza standard a antigenului IPV.

5 Un alt obiect al prezentei dezvoltării este de a oferi un vaccin combinat complet lichid ce conține cel puțin un paraben, de ex. conservant metil- sau propilparaben și 2-fenoxietanol (2-PE), pentru a îmbunătăți eficacitatea de conservare a vaccinului combinat cu doze multiple.

10 Un alt obiect al prezentei dezvoltării este de a oferi o metodă îmbunătățită de fabricare a unei astfel de compoziție/formulare a vaccinului combinat în care, vaccinul care prezintă imunogenicitate îmbunătățită, reactogenitate redusă, stabilitate îmbunătățită și îndeplinește în continuare criteriul de seroprotecție pentru fiecare din componenți imunogenici menționați.

Alte obiecte și avantaje ale prezentei dezvoltării vor fi mai aparente din descrierea următoare, care nu intenționează să limiteze nici într-un fel scopul prezentei dezvoltării.

15 O compoziție de vaccin combinat care include doze reduse de antigen al virusului de poliomielită inactivat (IPV) combinate cu alți antigeni/imunogeni și cel puțin un ester parabenic de ex. metil- sau propilparaben și 2-fenoxietanol (2-PE) folosit ca conservant în care eficacitatea de conservare a vaccinului combinat cu doze multiple și procesul de producere a acestuia este îmbunătățit.

Prezenta dezvoltare se referă la o compoziție de vaccin combinat care include:

20 a) Un toxoid difteric (D) și toxoid tetanos (T) de puritate superioară produs folosind mediu semisintetic, ulterior detoxifiat și adsorbit individual pe adjuvantul fosfat de aluminiu, astfel rezultând în îmbunătățirea imunogenității.

b) Component inactivat cu celule întregi de *B. pertussis* (wP) preparat folosind o combinație a inactivării termice și chimice, specific tulpinii *Bordetella pertussis* într-un raport rezultând o reactogenitate redusă și o potență crescută.

25 c) Antigen polizaharidic capsular (PRP) a *Haemophilus influenzae* de tip b (Hib) conjugat la o proteină purtătoare (CP).

d) Doză redusă de IPV (virus de poliomielită inactivat) Salk sau Sabin care prezintă eficacitate comparabilă în comparație cu doza standard preparată prin utilizarea metodelor îmbunătățite de inactivare cu formaldehidă și adsorbit opțional pe adjuvant fosfat de aluminiu.

30 e) Antigen de suprafață a hepatitei B (HepB) adsorbit individual pe adjuvantul fosfat de aluminiu, rezultând astfel o imunogenicitate sporită.

f) Conținut minim de aluminiu astfel, asigurând o reactogenitate redusă.

g) Cel puțin un ester parabenic de ex. metil sau propil paraben în afară de 2-fenoxietanol (2-PE) ca conservant.

35 Deși prezenta dezvoltare poate fi susceptibilă pentru diferite exemple de realizare, anumite exemple de realizare sunt prezentate în următoarea discuție detaliată, cu înțelegerea că prezenta dezvoltare poate fi considerată un exemplu a principiilor dezvoltării și nu intenționează să limiteze scopul dezvoltării precum este ilustrat și dezvoltat în această descriere. Exemplele de realizare sunt oferite astfel încât să transmită temeinic și pe deplin scopul prezentei dezvoltării pentru un specialis din domeniu. Sunt expuse numeroase detalii, referitoare la componenți și metodele specifice, pentru a oferi o înțelegere deplină a exemplelor de realizare a prezentei dezvoltării. Pentru un specialis din domeniu va fi evident că detaliile oferite în exemplele de realizare nu ar trebui să fie interpretate ca să limiteze scopul prezentei dezvoltării. În unele exemple de realizare, compoziția binecunoscută, procesul binecunoscut, și tehnicile binecunoscute nu sunt descrise detaliat.

45 Terminologia este folosită în prezenta dezvoltare, doar cu scopul de a explica un exemplu de realizare particular și o astfel de terminologie nu va fi considerată să limiteze scopul prezentei dezvoltării. Precum este folosit în prezenta dezvoltare, formele "o" "un" și "cel" pot fi intenționate să includă și formele la plural, cu excepția cazului în care contextul sugerează în mod clar altfel.

50 Termenii primul, al doilea, al treilea, etc., nu ar trebui să fie interpretate astfel ca să limiteze scopul prezentei dezvoltării deoarece termenii menționați mai sus pot fi folosiți doar pentru a distinge un element, component, regiune, strat sau secțiune dintr-un alt component, regiune, strat sau secțiune. Termeni ca primul, al doilea, al treilea etc., atunci când sunt folosiți aici nu implică o secvență specifică sau o secvență sau o ordine specifică, cu excepția cazului în care este sugerat în mod clar de prezenta dezvoltare. Prezenta dezvoltare oferă o compoziție imunogenică și un proces de pregătire a acesteia.

55 Termenul "vaccin" este substituit opțional cu termenul "compoziție imunogenică" și vice versa.

"Unități de antigen D" (de asemenea menționate ca "unități internaționale" sau UI): Forma antigenică D a virusului de poliomielită induce anticorpi neutralizanți de protecție. Unitățile de antigen D menționate până aici (de exemplu în vacinurile conform invenției) unitățile totale de antigen D măsurate din fiecare volum de antigen de tip IPV neadsorbit înainte de formularea vaccinului final care sunt

adăugate în fiecare doză umană al vaccinului formulat (de obicei 0.5 mL volum final). Metode sigure de măsurare a unităților de antigen D sunt bine cunoscute din stadiul anterior și sunt publicate, de exemplu, de Farmacopeia Europeană. De exemplu, unități de antigen D pot fi măsurate folosind testul ELISA așa cum este descris în Exemplul 1 ("D-antigen quantification by ELISA") de mai jos. Farmacopeia Europeană oferă o probă test (European Pharmacopoeia Biological Reference Preparation - available from Ph. Eur. Secretariat, e.g. Code P 216 0000) pentru standardizarea unei astfel de metode între producători (Pharmeuropa Special Issue, Bio 96-2). Astfel, valoarea unității de antigeni D este bine cunoscută din stadiul anterior.

Termenul "doza" aici este de obicei o administrare de vaccin conform invenției, care este de obicei o injecție. O doză umană tipică este de 0,5 mL. Desigur diverse doze pot fi administrate într-un program de administrare a vaccinului.

Termenul "IPV" sau o compoziție imunogenică care include acești componenți aici intenționează să însemne virus inactivat de poliomielită de tip 1 (de ex. Mahoney, ca folosit de preferință), de tip 2 (de ex. MEF-1), sau de tip 3 (de ex. Saukett), sau o combinație de serotip Sabin 1, 2, 3 de fie două, fie din toate aceste trei tipuri. Un exemplu de o doză întreagă (sau standard) (unități de antigen 40-8-32 D ale IPV bazat pe Salk de tipuri 1, 2 și 3, respectiv) Compoziție imunogenică IPV pentru scopurile acestei invenții ar putea fi Polivac® (Serum Institute of India Pvt. Ltd.). Astfel, precum se afirmă aici reducerea dozei de una, două, trei ori (redușă) în comparație cu doza standard al IPV bazat pe Salk este prezent într-o compoziție imunogenică conform invenției înseamnă unități de antigen D echivalente cu X% de reducere a dozei cu 40, 8, și/sau 32 de unități de antigen D al IPV de tipurile 1, 2 și/sau 3 respectiv (măsurat în fiecare volum de antigen IPV de orice tip) sunt formulate în fiecare doză de vaccin menționat.

Termenul "zaharide" în toată această specificare poate indicate polizaharida sau oligozaharidele și le include pe ambele. Antigenul zaharidic capsular poate fi o polizaharidă cu lungimea întreagă sau poate fi extinsă la zaharide de mărime bacteriene și oligozaharide (care natural au un număr mic de unități care se repetă, sau care sunt polizaharide cu mărimea redusă pentru flexibilitate, dar sunt încă capabile să indică un răspuns imun protectiv într-o gazdă.

În conformitate cu un prim exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, compoziția de vaccin combinat include un grup de antigeni/imunogeni selectați din, dar fără a se limita la toxoidul difteric (D), toxoidul tiganos (T), cu celule întregi *B. pertussis* (wP), *Haemophilus influenzae* de tip b (Hib) PRP-CP conjugat, hepatita B (HepB), doză redusă de virus de poliomielită inactivat (IPV) și include în plus o combinație de 2-fenoxietanol și cel puțin unul din esterii parabeni conservanți.

În conformitate cu al doilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, compoziția de vaccin combinat or putea în continuare include unul sau mai mulți antigeni selectați din grupul ce constă din, dar fără a se limita la antigenii *Haemophilus influenzae* (serotipurile a, c, d, e, f și tulpinile neîncapsulate), hepatita (tulpinile A, C, D, E, F și G), *Neisseria meningitidis* A, B, C, Y, W-135, sau X, gripa, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* antigen(i), antigen acelular pertussis, adenilat ciclaza modificată, antigen malaric (RTS, S), pneumococi, streptococi, antrax, dengue, malaria, rujeola, oreion, rubeola, BCG, virusul papilomei umane, encefalita Japoneză, dengue, zika, ebola, chikungunya, rotavirus, variola, friguri galbene, flavivirus, zoster, virusul de varicelă, respectiv.

În conformitate cu al treilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, tulpinile IPV folosite în compoziția de vaccin combinat includ tulpini inactivate Sabin selectate din grupul de tip 1, tip 2, și tip 3 sau tulpini inactivate Salk selectate din grupul Mahoney de tip 1, MEF de tip 2 și Saukett de tip 3.

În unul din aspectele celui de al treilea exemplu de realizare, virusului de poliomielită poate fi crescut prin următoarea metodă:

- Linia de celule CCL81-VERO (rinichi de maimuță) a fost folosită ca celule gazdă pentru creșterea virusului de poliomielită de ex. tulpinile Sabin și Salk.
- După infectarea celulelor gazdă cu tulpina dorită de virus de poliomielită și incubarea timp de 72 ore, mediul ce conține virusul și resturile celulare au fost unite și colectate într-un singur container.
- Filtratul a fost supus filtrării tangențiale în flux cu o caseta de 100 KDa; diafiltrat folosind soluția tampon fosfat și purificat folosind cromatografia de schimb ionic.
- Înainte de administrare la pacienți, virusul poate fi inactivat folosind metode de inactivare potrivite.

Totuși, inventatorii prezenți au găsit în mod surprinzător că pierdere procentuală înaltă a antigenilor D după inactivarea cu formaldehidă s-ar putea datorită prezenței soluției tampon fosfat care provoacă în mod neașteptat agregarea nedorită a particulelor de virus de poliomielită.

Prin urmare, un aspect important al prezentei dezvoltării include, un proces îmbunătățit de inactivare cu formalină care include următoarele etape:

a) setul de virus purificat o fost supus schimbului tampon de la soluția tampon fosfat la soluția tampon Tris în limitele de la (30 la 50 mM), având pH-ul între 7 și 7,5;

b) la amestecul de mai sus s-a adăugat mediul M-199 ce conține glicină (5 gm/L);

c) s-a adăugat 0,025% formaldehidă și cu amestecarea ulterioară;

5 d) amestecul a fost ulterior incubat la 37°C pentru 5...13 zile cu agitare continuă a masei virale cu un agitator magnetic;

e) amestecul după incubare a fost supus sistemului intermediar TFF (100 KDa, 0,1 m²) în ziua a 7-a și filtrării finale după inactivare;

f) ulterior volumul filtrat o fost depozitat la 2...8°C;

10 g) realizarea ELISA D-Ag pentru determinare unităților D-Ag.

În conformitate cu al patrulea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, tulpinile IPV folosite în compoziția de vaccin combinat include o doză redusă de tulpini inactivate Sabin selectate din grupul de tip 1, tip 2, și tip 3 sau tulpini inactivate Salk selectat din grupul Mahoney de tip 1, MEF de tip 2 și Saukett de tip 3.

15 În conformitate cu al cincilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, IPV-ul (tulpinile Sabin sau Salk) nu poate fi adsorbit individual pe nici un adjuvant și ulterior adăugat la compoziția finală de vaccin combinat.

20 În conformitate cu aspectul preferat al exemplului cinci de realizare, IPV-ul (tulpinile Sabin sau Salk) poate fi adsorbit pe adjuvant mai preferabil sare de aluminiu sau fosfat sau hidroxid prezent în vaccinul combinat în care procentul de adsorbție al antigenului IPV pentru IPV de tip 1 pot fi în limitele de la 10...100 %, IPV de tip 2 pot fi în limitele de la 60...100% și IPV de tip 3 pot fi în limitele de la 10...100 %.

25 În conformitate cu al șaselea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, IPV-ul (tulpinile Sabin sau Salk) component(ții) poate fi adsorbit individual pe un adjuvant selectat din grupul de sare de aluminiu (Al³⁺) precum hidroxidul de aluminiu (Al(OH)₃) sau fosfatul de aluminiu (AlPO₄), aluminiu, fosfat de calciu, MPLA, 3D-MPL, QS21, un adjuvant ce conține oligodeoxinucleotide-CpG, liposom, sau emulsie ulei-în-apă sau o combinație a acestora. (de ex. înainte sau după amestecarea cu alte componente dacă sunt prezenți). Dacă este adsorbit, unul sau mai mulți componente IPV pot fi adsorbiți separat sau împreună ca un amestec pe hidroxid de aluminiu (Al(OH)₃) sau fosfat de aluminiu.

30 IPV-ul (tulpinile Sabin sau Salk) componentul(ții) poate fi adsorbit pe o sare de aluminiu prin următoarea procedură:

- luarea volumul dorit de Al(PO)₄ sau Al(OH)₃ autoclavat pentru a obține concentrația finală de aluminiu (Al³⁺) de la 0,1 până la 0,8 mg/doza într-un container de 50 mL;

35 ● adăugarea volumului IPV cu unitatea D-Ag ajustată și pregătirea volumului cu diluant (10 x M-199 + 0,5% glicină);

- ajustarea pH-ului formulării finale și obținerea formulării finale cu pH-ul între 6 și 7,5.

40 În unul din aspectele celui de al șaselea exemplu de realizare, adsorbția IPV inactivat cu formalină poate fi realizată pe aluminiu (Al³⁺) având concentrația selectată de 0,1 mg/doză, 0,2 mg/doză, 0,3 mg/doză, 0,4 mg/doză, 0,5 mg/doză, 0,6 mg/doză, 0,7 mg/doză și 0,8 mg/doză, preferabil între 0,1 mg/doză la 1,25 mg/doză per serotip și la un pH selectat din 6,2; 6,3; 6,4; 6,5; 6,6; 6,7 și 6,8 preferabil 6,5.

45 Într-un alt aspect al celui de al șaselea exemplu de realizare, procentul de recuperare a antigenilor D după inactivarea cu formalină în prezență de Tris ar putea fie 50%, 60%, 70% sau 80% și procente de adsorbție după adsorbția pe fosfat de aluminiu ar putea fi între 70% și 80%, 80% și 90% sau 90% și 99% sau 95% și 99%.

50 În conformitate cu al șaptelea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, toxina difterică (exotoxina) și toxina tetanos (exotoxina) au fost obținute din *Corynebacterium diphtheriae* și *Clostridium tetani* respectiv și ulterior detoxificate folosind o metodă potrivită de inactivare. Toxoidul difteric (D) și toxoidul tetanos (T) astfel obținut pot fi purificați folosind cromatografia cu filtrare pe gel. DT-ul purificat, astfel obținut a fost în continuare folosit pentru formulare vaccinului combinat.

În unul din aspectele al celui de al șaptelea exemplu de realizare, toxina difterică este produsă prin creșterea *Corynebacterium diphtheriae* într-un mediu semisintetic ce constă din următorii ingrediente la concentrații optime în oricare dintre următoarele combinații:

Combi-nația 1:

55 Hidrolizat de cazeină, maltoză monohidrat, acid acetic glacial, lactat de sodiu, sulfat de magneziu, β-alanină, acid pimelic, acid nicotinic, sulfat de cupru, sulfat de zinc, clorură de mangan, L-cistina, clorură de calciu dihidrat, dihidrogenofosfat de potasiu, hidrogenofosfat de potasiu, sulfat de fier și WFI.

Combi-nația 2:

Hidrolizat de cazeină, maltoză monohidrat, acid acetic glacial, lactat de sodiu, sulfat de magneziu, β -alanină, acid pimelic, acid nicotinic, clorură de mangan, L-cistină, clorură de calciu dihidrat, dihidrogenofosfat de potasiu, hidrogenofosfat de potasiu, sulfat de fier și WFI.

Combinăția 3:

5 Hidrolizat de cazeină, maltoză monohidrat, acid acetic glacial, lactat de sodiu, β -alanină, acid pimelic, acid nicotinic, sulfat de cupru, sulfat de zinc, clorură de mangan, L-cistină, clorură de calciu dihidrat, dihidrogenofosfat de potasiu, hidrogenofosfat de potasiu și WFI.

Combinăția 4:

10 Extract din drojdie, maltoză monohidrat, acid acetic glacial, lactat de sodiu, sulfat de magneziu, β -alanină, acid pimelic, acid nicotinic, sulfat de cupru, sulfat de zinc, clorură de mangan, L-cistină, clorură de calciu dihidrat, dihidrogenofosfat de potasiu, hidrogenofosfat de potasiu, sulfat de fier și WFI.

În conformitate cu al doilea aspect al celui de al șaptelea exemplu de realizare, toxina tetanos este produsă prin creșterea *Clostridium tetani* într-un mediu semisintetic ce constă din următorii ingrediente la concentrații optime în oricare dintre următoarele combinații:

15 Combinăția 1:

Digest de cazeină, clorură de calciu, hidrogenofosfat de potasiu, dextroză anhidră, clorură de sodiu, sulfat de magneziu, riboflavina, clorohidrat de tiamină, clorohidrat de piridoxină, pantotemat de calciu, acid nicotinic, L-cistină, clorură de fier, soluție de vitamina B12, biotină, HCl conc., NaOH, etanol absolut și WFI.

20 Combinăția 2:

Digest de cazeină, clorură de calciu, β -alanină, hidrogenofosfat de potasiu, dextroză anhidră, clorură de sodiu, sulfat de magneziu, sulfat de fier, riboflavina, clorohidrat de tiamină, clorohidrat de piridoxină, pantotemat de calciu, acid nicotinic, L-cistină, clorură de fier, soluție de vitamina B12, biotina, HCl conc., NaOH, etanol absolut și WFI.

25 Combinăția 3:

Digest de cazeină, clorură de calciu, hidrogenofosfat de potasiu, dextroză anhidră, clorură de sodiu, sulfat de zinc, riboflavina, clorohidrat de tiamină, clorohidrat de piridoxină, pantotemat de calciu, acid nicotinic, L-cistină, clorură de fier, soluție de vitamina B12, biotină, HCl conc., NaOH, etanol absolut și WFI.

30 Combinăția 4:

Hidrolizat de cazeină, clorură de calciu, hidrogenofosfat de potasiu, dextroză anhidră, clorură de sodiu, sulfat de magneziu, clorură de mangan, riboflavina, clorohidrat de tiamină, clorohidrat de piridoxină, pantotemat de calciu, acid nicotinic, L-cistină, clorură de fier, soluție de vitamina B12, biotină, HCl conc., NaOH, etanol absolut și WFI.

35 Într-un alt aspect al celui de al șaptelea exemplu de realizare, toxinele difteriei și tetanosului au fost detoxificate folosind o sau combinația următoarelor metode de inactivare care includ inactivarea termală, UV, cu formalină/formaldehidă, acetiletlenimină, etc.

40 În conformitate cu al optulea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, antigenul hepatitei (Hep) folosite în compoziția de vaccin combinat include antigenii hepatitei derivați din tulpina de suprafață a hepatitei B (HBsAg).

În unul din aspectele al celui de al noulea exemplu de realizare, HBsAg poate fi pregătit prin una din următoarele metode:

45 • prin purificarea antigenului în formă de particule din plasma purtătorilor de hepatită B cronică, deoarece cantități mari de HBsAg sunt sintetizate în ficatul și eliberate în sistemul sanguin pe durata unei infecții HBV;

• exprimând proteina prin metoda DNA recombinant.

50 În conformitate cu al nouălea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, toxoidul difteric (D), toxoidul tetanos (T), antigenul de suprafață a hepatitei B (HBsAg) sunt adsorbiți individual pe un adjuvant selectat din grupul format din sare de aluminiu (Al^{3+}) ca hidroxid de aluminiu ($Al(OH)_3$) sau fosfat de aluminiu ($AlPO_4$) și aluminiu.

Totuși, de preferință toxoidul difteric (D), toxoidul tetanos (T) și antigenul de suprafață a hepatitei B (HBsAg) sunt adsorbiți individual pe fosfat de aluminiu.

În unul din aspectele celui de al noulea exemplu de realizare, antigenul toxoidului difteric (D) adsorbit pe fosfat de aluminiu, având un procentaj al adsorbției de cel puțin 50%.

55 Într-un alt aspect al celui de al noulea exemplu de realizare, antigenul toxoidului tianic (T) adsorbit pe fosfat de aluminiu, având un procentaj al adsorbției de cel puțin 40%.

Într-un alt aspect al celui de al noulea exemplu de realizare, antigenul de suprafață a hepatitei B (HBsAg) adsorbit pe fosfat de aluminiu, având un procentaj al adsorbției de cel puțin 70%.

În conformitate cu al zecelea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, antigenul Hib folosit în vaccinul combinat al prezentei dezvoltării este derivat din polizaharida capsulară a tulpinei *Haemophilus influenzae* de tip B (Hib) 760705.

5 În conformitate cu unul din aspectele celui de al zecelea exemplu de realizare, antigenul Hib PRP este conjugat la o proteină purtătoare selectată dintr-un grup de purtători de proteine ce constă din, dar fără a se limita la, CRM197, toxoidul difteric, complexul membranei externe *Neisseria meningitidis*, fragmentul C al toxoidului tetanic, toxoidul pertussis, proteina D a *H. influenzae*, LT *E. coli*, ST *E. coli*, și exotoxina A din *Pseudomonas aeruginosa*, membrana externă complex c (OMPC), porine, proteinele care leagă transferina, pneumolizina, proteina A de suprafață pneumococică (PspA), adezina A de suprafață pneumococică (PsaA), PhtD pneumococic, proteina de suprafață pneumococică BVH-3 și BVH-11, antigen protectiv (PA) a *Bacillus anthracis* și factor de edem detoxificat (EF) și factor letal (LF) a *Bacillus anthracis*, ovalbumina, hemocianina de limpet gaură (KLH), albumină serică umană, albumină serică bovină (BSA), derivat proteic purificat al tuberculinei (PPD), peptide sintetice, proteine de șoc termic, proteine pertusis, citokine, limfokine, hormoni, factori de creștere, proteine artificiale care includ epitopi multipli ai celulelor T CD4 + umane din diverși antigeni derivați din agenți patogeni ca N 19, proteine de absorbție a fierului, toxină A sau B din proteinele *C. difficile* și *S. agalactiae* cu sau fără linker.

Totuși, de preferință PRP-ul Hib este conjugat la toxoidul tetanos (TT) prin chimia CNBr, chimia de aminare reductivă, chimia de cianurare sau orice altă chimie dezvoltată deja în (Kniskern și colab. Conjugation: design, chemistry, and analysis., Ellis et al., Development and clinical uses of *Haemophilus influenzae* type B conjugate vaccines. New York: Marcel Dekker, 1994, p. 37-69).

20 În conformitate cu al doilea aspect al celui de al zecelea exemplu de realizare, proteina purtătoare este prezentă în ambele forme liberă și conjugată într-o compoziție al prezentei dezvoltării, forma conjugată este preferabilă nu mai mult de 20% din cantitatea totală a purtătorului de proteină în întreaga compoziție, și mai preferabilă prezentă în mai puțin de 5% din masă.

25 În conformitate cu al treilea aspect al celui de al zecelea exemplu de realizare, antigenul Hib nu este adsorbit substanțial pe orice adjuvant.

În conformitate cu al patrulea aspect al celui de al zecelea exemplu de realizare, antigenul Hib nu poate fi supus adsorbției la deliberate sau intenționate pe orice adjuvant.

30 În conformitate cu al cincilea aspect al celui de al zecelea exemplu de realizare, procentajul de adsorbție a antigenului Hib pe orice adjuvant este mai mic de 20%.

În conformitate cu al unsprezecelea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, pregătirea antigenului pertussis cu celule întregi (wP) folosit în compoziția de vaccin combinat al prezentei dezvoltării este preferabilă pregătit din tulpinile *Bordetella pertussis* 134, 509, 25525 și 6229 amestecat într-un raport specific și ulterior inactivat prin utilizarea metodei îmbunătățite de inactivare lipsit de tiomersal prin urmare conduce la reactivitate redusă și potență crescută și antigenii wP pot sau nu pot fi adsorbiți pe adjuvanți bazați pe aluminiu.

35 În conformitate cu un aspect al celui de al unsprezecelea exemplu de realizare, pregătirea antigenului pertussis cu celule întregi (wP) folosite în compoziția de vaccin combinat al prezentei dezvoltării este preferabilă pregătit din tulpinile *Bordetella pertussis* 134, 509, 25525 și 6229 amestecate într-un raport de 1:1:0,25:0,25.

40 În conformitate cu al doilea aspect al celui de al unsprezecelea exemplu de realizare, pregătirea antigenului pertussis cu celule întregi (wP) folosite în compoziția de vaccin combinat o fost inactivată folosind unul sau mai multe din următoarele tratamente de inactivare care include tratamentul termal, UV, cu formalină/formaldehidă, acetiletlenimină, etc.

45 Totuși, de preferință pregătirea antigenului pertussis cu celule întregi (wP) folosite în compoziția de vaccin combinat o fost inactivată folosind o combinație de tratament termic și chimic. Totuși, de preferință este inactivarea termică la $56 \pm 2^\circ\text{C}$, de la 10 la 15 minute în prezență de formaldehidă în care, volumul wP rămâne neaglomerat și ușor omogenizat, ducând ușor la reactivitate redusă și oferind wP potență mai bună pentru o durată mai lungă.

50 În conformitate cu al treilea aspect al celui de al unsprezecelea exemplu de realizare, pregătirea antigenului pertussis cu celule întregi (wP) folosite în compoziția de vaccin combinat pot sau nu pot fi adsorbiți pe un adjuvant bazat pe aluminiu ca hidroxid de aluminiu, fosfat de aluminiu sau combinația acestora (de ex. înainte sau după amestecare cu alte componente dacă sunt prezente). Dacă este adsorbit, una sau mai multe tulpini wP (de ex. 134, 509, 25525 și 6229) pot fi adsorbite individual sau împreună ca un amestec.

55 În conformitate cu al doisprezecelea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziției de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 1

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10 - 25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02 - 10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12 - 16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBsAg	7 - 15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7 - 13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomelită inactivat (IPV) serotip Sabin		
	Tip 1 (unități de antigen D)	1 - 25 DU	Preferabil unul din 5 sau 10 sau 20 DU
	Tip 2 (Unități de antigen D)	1 - 10 DU	Preferabil unul din 8 sau 4 DU
	Tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg
9	Metilparaben	0,1 - 1,5 mg	Preferabil unul din 0,7 sau 0,9 sau 1 mg
10	Propilparaben	0,05 - 0,2 mg	Preferabil unul din 0,05 sau 0,1 sau 0,15 mg

În conformitate cu al treisprezecelea exemplu de realizare al prezentei dezvăluiri, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

5

Tabelul 2

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBsAg	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomelită inactivat (IPV) serotip Salk		
	Mahoney de tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 7,5 sau 10 sau 20 DU
	MEF-1 Tip 2 (Unități de antigen D)	1 - 10 DU	Preferabil unul din 1,5 sau 2 sau 4 sau 8 DU
	Saukett de tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 6 sau 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg
9	Metilparaben	0,1 - 1,5 mg	Preferabil unul din 0,7 sau 0,9 sau 1 mg
10	Propilparaben	0,05 - 0,2 mg	Preferabil unul din 0,05 sau 0,1 sau 0,15 mg

În conformitate cu al paisprezecelea exemplu de realizare al prezentei dezvăluiri, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 3

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25

			Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Sabin		
	Tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 5 sau 10 sau 20 DU
	Tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0.63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg
9	Metilparaben	0,1 - 1,5 mg	Preferabil unul din 0,7 sau 0,9 sau 1 mg
10	Propilparaben	0,05 - 0,2 mg	Preferabil unul din 0,05 sau 0,1 sau 0,15 mg

În conformitate cu al cincisprezecea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 4

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Salk		
	Mahoney de tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 7,5 sau 10 sau 20 DU
	Saukett de tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 6 sau 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0.63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg
9	Metilparaben	0,1 - 1,5 mg	Preferabil unul din 0,7 sau 0,9 sau 1 mg
10	Propilparaben	0,05 - 0,2 mg	Preferabil unul din 0,05 sau 0,1 sau 0,15 mg

5

În conformitate cu al șaisprezecea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 5

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de

MD 4890 B1 2024.04.30

15

		PRP	PRP
6	Virus de poliomelită inactivat (IPV) serotip Sabin		
	Tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 5 sau 10 sau 20 DU
	Tip 2 (Unități de antigen D)	1 - 10 DU	Preferabil unul din 8 sau 4 DU
	Tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg
9	Metilparaben	0,1 - 1,5 mg	Preferabil unul din 0,7 sau 0,9 sau 1 mg

În conformitate cu al șaptesprezecelea exemplu de realizare al prezentei dezvăluiri, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 6

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 μg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 μg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 μg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 μg de PRP
6	Virus de poliomelită inactivat (IPV) serotip Salk		
	Mahoney de tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 7,5 sau 10 sau 20 DU
	MEF-1 Tip 2 (Unități de antigen D)	1 - 10 DU	Preferabil unul din 1,5 sau 2 sau 4 sau 8 DU
	Saukett de tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 6 sau 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg
9	Metilparaben	0,1 - 1,5 mg	Preferabil unul din 0,7 sau 0,9 sau 1 mg

5

În conformitate cu al optsprezecelea exemplu de realizare al prezentei dezvăluiri, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 7

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 μg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 μg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 μg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 μg de PRP
6	Virus de poliomelită inactivat (IPV) serotip Sabin		
	Tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 5 sau 10 sau 20 DU
	Tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 -0,6 mg	Preferabil NMT 0.3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg

MD 4890 B1 2024.04.30

16

9	Metilparaben	0,1 - 1,5 mg	Preferabil unul din 0,7 sau 0,9 sau 1 mg
---	--------------	--------------	--

În conformitate cu al nouăsprezecelea exemplu de realizare al prezentei dezvoltări, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 8

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Salk		
	Mahoney de tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 7.5 sau 10 sau 20 DU
	Saukett de tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 6 sau 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg
9	Metilparaben	0,1 - 1,5 mg	Preferabil unul din 0,7 sau 0,9 sau 1 mg

5

În conformitate cu al douăzecilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltări, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 9

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Sabin		
	Tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 5 sau 10 sau 20 DU
	Tip 2 (Unități de antigen D)	1 - 10 DU	Preferabil unul din 8 sau 4 DU
	Tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg
9	Propilparaben	0,05 - 0,2 mg	Preferabil unul din 0,05 sau 0,1 sau 0,15 mg

10

În conformitate cu al douăzeci și unulea exemplu de realizare al prezentei dezvoltări, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 10

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf

2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Salk		
	Mahoney de tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 7,5 sau 10 sau 20 DU
	MEF-1 Tip 2 (Unități de antigen D)	1 - 10 DU	Preferabil unul din 1,5 sau 2 sau 4 sau 8 DU
	Saukett de tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 6 sau 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg
9	Propilparaben	0,05 - 0,2 mg	Preferabil unul din 0,05 sau 0,1 sau 0,15 mg

În conformitate cu al douăzeci și doilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 11

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Sabin		
	Tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 5 sau 10 sau 20 DU
	Tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg
9	Propilparaben	0,05 - 0,2 mg	Preferabil unul din 0,05 sau 0,1 sau 0,15 mg

5

În conformitate cu al douăzeci și treilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 12

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Salk		

	Mahoney de tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 7.5 sau 10 sau 20 DU
	Saukett de tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 6 sau 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2.5 sau 3 mg
9	Propilparaben	0,05 - 0,2 mg	Preferabil unul din 0,05 sau 0,1 sau 0,15 mg

În conformitate cu al douăzeci și patrulea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 13

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Sabin		
	Tip 1 (Unități de antigen D)	1 - 25 DU	Preferabil unul din 5 sau 10 sau 20 DU
	Tip 2 (Unități de antigen D)	1 - 10 DU	Preferabil unul din 8 sau 4 DU
	Tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	Metilparaben	0,1 - 1,5 mg	Preferabil unul din 0,7 sau 0,9 sau 1 mg
9	Propilparaben	0,05 - 0,2 mg	Preferabil unul din 0,05 sau 0,1 sau 0,15 mg

5

În conformitate cu al douăzeci și cincilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 14

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Salk		
	Mahoney de tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 7,5 sau 10 sau 20 DU
	MEF-1 Tip 2 (Unități de antigen D)	1 - 10 DU	Preferabil unul din 1,5 sau 2 sau 4 sau 8 DU
	Saukett de tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 6 sau 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	Metilparaben	0,1 - 1,5 mg	Preferabil unul din 0,7 sau 0,9 sau 1 mg
9	Propilparaben	0,05 - 0,2 mg	Preferabil unul din 0,05 sau 0,1 sau 0,15 mg

			mg
--	--	--	----

În conformitate cu al douăzeci și șaselea exemplu de realizare al prezentei dezvoltări, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 15

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Sabin		
	Tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 5 sau 10 sau 20 DU
	Tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	Metilparaben	0,1 - 1,5 mg	Preferabil unul din 0,7 sau 0,9 sau 1 mg
9	Propilparaben	0,05 - 0,2 mg	Preferabil unul din 0,05 sau 0,1 sau 0,15 mg

5

În conformitate cu al douăzeci și șaptelea exemplu de realizare al prezentei dezvoltări, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 16

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Salk		
	Mahoney de tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 7,5 sau 10 sau 20 DU
	Saukett de tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 6 sau 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	Metilparaben	0,1 - 1,5 mg	Preferabil unul din 0,7 sau 0,9 sau 1 mg
9	Propilparaben	0,05 - 0,2 mg	Preferabil unul din 0,05 sau 0,1 sau 0,15 mg

10

În conformitate cu al douăzeci și optulea exemplu de realizare al prezentei dezvoltări, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 17

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf

2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Sabin		
	Tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 5 sau 10 sau 20 DU
	Tip 2 (Unități de antigen D)	1 - 10 DU	Preferabil unul din 8 sau 4 DU
	Tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg

În conformitate cu al douăzeci și nouălea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 18

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Salk		
	Mahoney de tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 7,5 sau 10 sau 20 DU
	MEF-1 Tip 2 (Unități de antigen D)	1 - 10 DU	Preferabil unul din 1,5 sau 2 sau 4 sau 8 DU
	Saukett de tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 6 sau 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg

5

În conformitate cu al treizecilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 19

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Sabin		
	Tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 5 sau 10 sau 20 DU
	Tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 10 sau 16 DU

7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg

În conformitate cu al treizeci și unulea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziție de vaccin combinat cu doze multiple include:

Tabelul 20

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 μg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 μg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 μg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 μg de PRP
6	Virus de poliomelită inactivat (IPV) serotip Salk		
	Mahoney de tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 7,5 sau 10 sau 20 DU
	Saukett de tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 6 sau 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63
8	2-Fenoxietanol	1 - 6 mg	Preferabil unul din 2 sau 2,5 sau 3 mg

5

În conformitate cu al treizeci și doilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziției de vaccin combinat cu o singură doză include:

Tabelul 21

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 μg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 μg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 μg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 μg de PRP
6	Virus de poliomelită inactivat (IPV) serotip Sabin		
	Tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 5 sau 10 sau 20 DU
	Tip 2 (Unități de antigen D)	1 - 10 DU	Preferabil unul din 8 sau 4 DU
	Tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63

10

În conformitate cu al treizeci și treilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziției de vaccin combinat cu o singură doză include:

Tabelul 22

Sr. No.	Componenți ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16

			IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Salk		
	Mahoney de tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 7,5 sau 10 sau 20 DU
	MEF-1 Tip 2 (Unități de antigen D)	1 - 10 DU	Preferabil unul din 1,5 sau 2 sau 4 sau 8 DU
	Saukett de tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 6 sau 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63

În conformitate cu al treizeci și patrulea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziției de vaccin combinat cu o singură doză include:

Tabelul 23

Sr. No.	Compoziții ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Sabin		
	Tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 5 sau 10 sau 20 DU
	Tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63

5

În conformitate cu al treizeci și cincilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, formularea compoziției de vaccin combinat cu o singură doză include:

Tabelul 24

Sr. No.	Compoziții ai formulării	Unitate de antigen/doză de 0,5 mL	Unitatea de antigen preferată/doză de 0,5 mL (în orice combinație)
1	Toxoid difteric (D)	10-25 Lf	Preferabil unul din 10 sau 20 sau 25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	02-10 Lf	Preferabil unul din 2 sau 4 sau 10 Lf
3	Antigen <i>B. pertussis</i> inactivat (wP)	12-16 IOU	Preferabil unul din 12 sau 14 sau 16 IOU
4	Antigen HBs	7-15 µg	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 15 µg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	7-13 µg de PRP	Preferabil unul din 8 sau 10 sau 13 µg de PRP
6	Virus de poliomeilită inactivat (IPV) serotip Salk		
	Mahoney de tip 1 (Unități de antigen D)	1 -25 DU	Preferabil unul din 7,5 sau 10 sau 20 DU
	Saukett de tip 3 (Unități de antigen D)	1 - 20 DU	Preferabil unul din 6 sau 10 sau 16 DU
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	0,1 - 0,6 mg	Preferabil NMT 0,3 sau NMT 0,55 sau NMT 0,63

10

În conformitate cu al treizeci și șaselea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, unul sau mai mulți antigeni ai compoziției finale de vaccin combinat nu pot fi adsorbit substanțial pe orice adjuvant.

În conformitate cu al treizeci și șaptelea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, pH-ul compoziției imunogenice poate fi în limitele de la pH 6,0 la pH 8,0; mai preferabil în limitele de la pH 6,0 la pH 7,5; și mai preferabil în limitele de la pH 6,2 la pH 7,2; și cel mai preferabil în limitele de la pH 6,3 la pH 6,8.

5 În conformitate cu treizeci și optulea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, compoziția imunogenică poate include în plus un agent tampon selectat din grupul ce constă din carbonat, fosfat, acetat, succinat, borat, citrat, lactat, gluconat și tartrat, precum și mai mulți agenți de tamponare organici complecși inclusiv o soluție a agentului de tamponare fosfat care conține fosfat de sodiu și/sau fosfat de potasiu într-un raport selectat pentru a atinge pH-ul dorit. Într-un alt exemplu, agentul de tamponare
10 conține Tris (hidroximetil)aminometan, sau "Tris", formulată pentru a atinge pH-ul dorit. Dar într-un alt exemplu, agentul de tamponare ar putea fi mediul esențial minim cu săruri Hanks. Alți agenți de tamponare, ca HEPES, N-piperazin, N'-bis (PIPES), și acid 2-etansulfonic (MES) sunt de asemenea prevăzuți de prezenta dezvoltare. Agentul de tamponare ajută în stabilizarea compoziției imunogenice al prezentei dezvoltării. Cantitate agentului de tamponare poate fi în limitele de la 0.1 mM până la 100 mM,
15 preferabil selectat din 5 mM, 6 mM, 7 mM, 22 mM, 23 mM, 24 mM, 25 mM, 26 mM, 27 mM, 28 mM, 29 mM și 30 mM.

Încă într-un aspect al exemplului de realizare, compoziția imunogenică poate include în plus excipienți farmaceutic acceptabili selectați din grupul ce constă din surfactanți, polimeri și săruri. Exemplele de surfactanți poate include surfactanți neionici ca polisorbitat 20, polisorbitat 80, etc. Exemplele
20 de polimeri poate include dextran, carboximetil celuloza, acid hialuronic, ciclodextrina, etc. Exemplele de săruri poate include NaCl, KCl, KH_2PO_4 , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 , MgCl_2 , etc. Preferabil, sărurile pot fi NaCl. De obicei cantitatea de săruri poate fi în limitele de la 100 mM la 200 mM.

Amino acizii, ca histidina, glicina, arginina și lizina pot fi adăugați să stabilizeze compoziția imunogenică.

25 În conformitate cu al treizeci și nouălea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, compoziția imunogenică poate în plus include unul sau mai mulți adjuvanți selectați din grupul format din sare de aluminiu (Al^{3+}) ca hidroxid de aluminiu ($\text{Al}(\text{OH})_3$) sau fosfat de aluminiu (AlPO_4), aluminiu, fosfat de calciu, MPLA, 3D-MPL, QS21, un adjuvant ce conține oligodeoxinucleotide-CpG, liposom, sau emulsie ulei-în-apă.

30 Totuși, de preferință compoziția include fosfat de aluminiu (AlPO_4) ca adjuvant.

Totuși, de preferință compoziția include hidroxid de aluminiu ($\text{Al}(\text{OH})_3$) ca adjuvant.

În unul din aspectele al treizeci și nouălea exemplu de realizare, antigeni formulării finale pot fi adsorbiți *in situ* pe gel de fosfat de aluminiu sau gel de fosfat de aluminiu gata pregătit sau o combinație a acestora.

35 În unul din aspectele preferate al treizeci și nouălea exemplu de realizare, compoziția din prezenta dezvoltare poate conține adjuvantul într-o cantitate de 2,5 mg/0,5 mL sau mai puțin, și în mod specific, într-o cantitate de la 1,5 mg/0,5 mL până la 0,1 mg/0,5 mL.

În conformitate cu al patruzecilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, compoziția imunogenică poate include în plus un component imunostimulator selectat din grupul ce constă dintr-o
40 emulsie din ulei și apă, MF-59, un liposom, o lipopolizaharidă, o saponină, lipidă A, derivați ai lipidei A, lipida A monofosforil, lipida A monofosforil 3-deacilată, AS01, AS03, o oligonucleotidă, o oligonucleotidă care include cel puțin un CpG nemetilată și/sau un liposom, adjuvant Freund, adjuvant complet Freund, adjuvant incomplet Freund, polimeri, co-polimeri precum copolimeri polioxdarhilene-polioxiopropilen, inclusiv block co-polimeri, polimer p 1005, adjuvant CRL-8300, muramil dipeptida, agoniști TLR-4, flagelin, flageline derivat din bacterii Gram negative, agoniști TLR-5, fragmente de flageline capabile să se lege la receptorii TLR-5, alfa-C-galactosliceramidă, chitosan, interleukin-2, QS-21, ISCOMS, amestecuri de squalen (SAF-1), Quil A, subunitatea toxinei holerei B, polifosfazena și derivați, preparate din perete celular de micobacterium, derivați ai acidului micolic, surfactanți block copolimer neionici, OMV, fHbp, combinație de saponină cu steroli și lipide.

50 În conformitate cu al patruzeci și primul exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, compoziția imunogenică poate include în plus un conservant selectat din grupul ce constă din clorură de benzetoni (Phemerol), fenol, *m*-crezol, Thiomersal, formaldehidă, clorură de benzalconiu, alcool benzilic, clorobutanol, *p*-cloro-*m*-crezol, sau alcool benzilic sau o combinație a acestora. O compoziție de vaccin poate include conservant pentru a singura imunizarea, sau poate include conservant pentru imunizări
55 multiple (de ex. un set "multidoza"). Incluziunea unui conservant este preferată în aranjamentele multidoză. Ca o alternativă (sau în plus) la includerea unui conservant în compozițiile multidoză, compozițiile pot fi păstrate într-un container având un adaptor aseptice pentru îndepărtarea materialului. De obicei cantitatea de conservant poate fi în limitele de la 0,1 mg la 50 mg.

În conformitate cu al patruzeci și doilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, compoziția imunogenică poate include în plus substanțe auxiliare ca agenți de umezire sau emulgatori, agenți de tamponare a pH-ului, aditivi de sporire a gelifierii sau vâscozității, agenți de aromatizare, coloranți, și alte asemenea, în funcție de ruta de administrare și preparare dorită.

5 În conformitate cu al patruzeci și treilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, compoziția imunogenică poate fi complet lichidă dar nu se limitează la aceasta. Formele potrivite de preparat lichid pot include soluții, suspensii, emulsii, siropuri, soluții apoase izotonice, compoziții vâscoase și elixiri care sunt tamponate la un pH dorit.

10 Compoziția imunogenică al prezentei dezvoltării poate fi în forma de preparate transdermale inclusiv loțiuni, geluri, spray-uri, unguente sau alte tehnici potrivite. Dacă este dorită administrarea nazală sau respiratorie (mucozal) (de ex., inhalarea aerosolului sau insuflare), compozițiile pot fi într-o formă și dispersate prin-un dozator de pulverizare prin stoarcere, dozator de pompă sau dozator de aerosoli. Aerosolii sunt de obicei sub presiune prin intermediul unei hidrocarburi. Dozatorii de pompă pot preferabil dispensa o doză contorizată sau a doză având o anumită dimensiune a particulelor. Când sunt în
15 forma de soluții, suspensii și geluri, în unele exemple de realizare, compozițiile imunogenice conțin o cantitate majoră de apă (preferabil apă purificată) pe lângă ingredientul(ți) activi.

În conformitate cu al patruzeci și patrulea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, vaccinul combinat menționat poate fi stabil la temperatura de 2...8°C de la 12 până la 36 luni; la 25°C de la 2 până la 6 luni; la 37°C de la 1 săptămână până la 4 săptămâni.

20 În conformitate cu al patruzeci și cincilea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, compoziția imunogenică poate fi formulată pentru utilizare într-o metodă pentru reducere a debutului sau prevenire a unei stări de sănătate care include difteria, tetanos, pertussis, virusul hepatitei B, *Haemophilus influenzae* de tip b, infecția cu virusul de poliomielită care implică administrarea unei cantități imunogenic efective de compoziție imunogenică la un subiect uman prin intermediul administrării parenterale sau subcutanate sau intradermale, intramusculare sau intraperitoneale sau intravenoasă sau administrare injectabilă sau eliberare susținută din implanturi sau administrare prin picături pentru ochi sau nazal sau rectal sau bucal sau vaginal, peroral sau intragastric sau mucozal sau perlingual, alveolar sau gingival sau alfaactiv sau administrarea prin mucoasa respiratorie sau orice alte căi de imunizare.

30 În conformitate cu al patruzeci și șaselea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, compoziția imunogenică ar putea fi formulată în formă de fiole cu doză unică sau fiole cu doze multiple (fiole cu 2 doze sau 5 doze sau 10 doze) sau set de doze sau în formă de seringi preumplute în care compoziția imunogenică menționată poate fi administrată printr-un program de doză unică, sau preferabil printr-un program de doză multiplă în care cursul primar de vaccinare este urmat de 1...3 doze separate administrate la intervale de timp ulterioare după 1...3 ani dacă este nevoie. Regimul de dozare asemenea, cel puțin în parte, va fi determinat la necesitatea unei doze de rapel necesare pentru a conferi imunitate
35 protectivă.

Totuși, de preferință compoziția imunogenică poate fi formulată pentru administrare la un subiect uman sau la copiii cu vârsta de 2 ani sau în conformitate cu regimurile cu două doze ce constă dintr-o primă doză, și o a doua doză la intervale de timp ulterioare după 1...3 ani.

40 Totuși, de preferință compoziția imunogenică poate fi administrată concomitent cu alte medicamente sau orice alt vaccin.

În conformitate cu al patruzeci și șaptelea exemplu de realizare al prezentei dezvoltării, solicitantul a găsit că un vaccin combinat cu doze multiple complet lichide cu imunogenicitate îmbunătățită și reactogenitate redusă poate fi obținut când vaccinul este fabricat prin procedeul dezvoltat mai jos luând în
45 considerare i) procesul de producere a antigenilor individuali ii) secvența de adiție a antigenilor iii) utilizarea adjuvanților specifici într-o cantitate specifică pentru anumiți antigeni, iv) adsorbția individuală sau adsorbția combinată a antigenilor pe adjuvanți v) gradul de adsorbție a antigenilor pe adjuvanți vi) folosind concentrația minimă de aluminiu vii) folosind concentrația optimă și tipul de conservanți viii) utilizarea diferitor parametri inclusiv agitarea, temperatura și pH-ul.

50 **Surse biologice de tulpini folosite în vaccinul combinat SIIPL.**

Toxoid difteric

Tulpina *Corynebacterium diphtheriae* PW8 CN2000 a fost obținută din the Wellcome Research Laboratory, London, United Kingdom by the National Control Authority Central Research Institute (C.R.I.) Kasauli, Himachal Pradesh, India în forma liofilizată în anul 1973. Tulpina a fost reînviată și în
55 continuare liofilizată sub Lotul de înseminare principal - *C. diphtheriae* CN2000 A1 la C.R.I. Kasauli.

Toxoid tetanos

Tulpina *Clostridium tetani* Harvard Tulpină No. 49205 a fost obținută de Institutul Rijks Voor de Volksgezondheid (Olanda) de către National Control Authority C.R.I. Kasauli, în forma liofilizată.

Pertussis

Fabricarea în masă a vaccinului contra pertussis la SIIPL implică utilizarea a patru tulpini de *Bordetella pertussis* anume tulpinile 134, 509, 6229 și 25525. Semințele de bază ale tulpinilor 134 și 509 sunt originare din Rijks Institute, Olanda, obținute prin National Control Authority, Central Research Institute, Kasauli, Himachal Pradesh, India. Semințele de bază ale tulpinilor 6229 și 25525 sunt originare din Lister Institute, Anglia.

Hepatita B

Rhein Biotech (Germany) a construit tulpina recombinantă *Hansenula polymorpha* ce conține gena antigenului de suprafață HBsAg. Rhein Biotech de asemenea a pregătit banca de celule de referință (MCB *Hansenula polymorpha* K3/8-1 tulpina ADW, 12/94) și efectuat toate testele de caracterizare asupra acestui banc.

***Haemophilus influenzae* de tip b**

Organismul sursă pentru generarea de substrat celular este *Haemophilus influenzae* de tip b, tulpina 760705. Tulpina a fost inițial izolată dintr-un băiețel de 2 ani și 2 luni (născut la 14-8-74) în Noiembrie 1976. Trei pasaje ale tulpinii au avut loc înainte de depozitare la -70°C la Centrul Medical Academic (AMC), Universitatea din Amsterdam. Această tulpină a fost transferată la SIIPL ca o parte a colaborării între SIIPL și Institutul de Vaccinuri Oladez (NVI, Olanda).

IPV

Tulpina și sursa virusului de poliomielită Salk sunt prezentate mai jos.

Poliovirus de tip 1

Tulpina: Mahoney,
Sursa: Bilthoven Biologicals, Olanda.

Poliovirus de tip 2

Tulpina: MEF1,
Sursa: Bilthoven Biologicals, Olanda.

Poliovirus de tip 3

Tulpina: Saukett,
Sursa: Bilthoven Biologicals, Olanda.

În toată această specificare cuvântul “include”, sau variații ca “include” sau “care include”, va fi înțeles să implice incluziunea unui element stabilit, număr întreg sau etapă, sau grup de elemente, numere întregi sau etape, dar nu excluderea oricărui alt element, număr întreg sau etapă, sau grup de elemente, numere întregi sau etape.

Utilizarea expresiei “cel puțin” sau “cel puțin un” sugerează utilizarea unuia sau mai multor elemente sau ingrediente sau cantități, precum pot fi utilizați în exemplul de realizare conform invenției pentru a atinge unul sau mai multe din obiectele sau rezultatele dorite. În timp ce anumite exemple de realizare conform invențiilor au fost descrise, aceste exemple de realizare au fost prezentate doar cu titlu de exemplu, și nu intenționează să limiteze scopul invențiilor. Variațiile sau modificările formulării acestei invenții, în conformitate cu scopul invenției, pot fi clare pentru persoanele din domeniu după examinarea prezentei dezvoltării. Aceste variații sau modificări sunt în corespundere cu spiritul acestei invenții.

Valorile numerice administrate pentru diverși parametri fizici, dimensiuni și cantități sunt doar valori aproximative și se prevede că valorile superioare decât valoarea numerică atribuită la parametrii fizici, dimensiuni și cantități intră în domeniul de aplicare a invenției cu excepția cazului în care există o declarație contrară.

În timp ce un accent considerabil a fost pus aici pe caracteristicile specifice ale exemplului de realizare preferat, va fi apreciat că multe caracteristici suplimentare pot fi adăugate și că multe schimbări pot fi pregătite în exemplul de realizare preferat fără a pleca de la principiile dezvoltării. Aceste și alte schimbări în exemplul de realizare preferat al dezvoltării va fi evident pentru persoanele din domeniu din prezenta dezvoltare, prin care trebuie să fie înțeles clar că materialul descris mai sus trebuie interpretat doar ca o ilustrare al dezvoltării și nu ca o limitare a acesteia.

Prezenta dezvoltare descrisă mai sus are câteva avantaje tehnice și avantaje inclusiv, dar fără a se limita la, realizarea unei compoziții de vaccin combinat care include D, T, wP, HBsAg, PRP-TT Hib conjugat și IPV și metoda de fabricare a acesteia.

În comparație cu alte compoziții de vaccin combinat, prezenta dezvoltare oferă următoarele avantaje:

1. Vaccin combinat complet lichid.
2. Doză redusă a antigenului IPV în comparație cu doza standard care prezintă eficacitate comparabilă în comparație cu doza standard (40-8-32 DU).
3. Imunogenicitate îmbunătățită a antigenului D, T, wP, HepB, Hib, IPV.

	(IPV)												
	Tip 1 (Unități de antigen D)	5 sau 10 sau 20	5 sau 10 sau 20	5 sau 10 sau 20	5 sau 10 sau 20	5 sau 10 sau 20	5 sau 10 sau 20	5 sau 10 sau 20	5 sau 10 sau 20	5 sau 10 sau 20	5 sau 10 sau 20	5 sau 10 sau 20	5 sau 10 sau 20
	Tip 2 (Unități de antigen D)	4 sau 8 sau 16	--	4 sau 8 sau 16	--	4 sau 8 sau 16	--	4 sau 8 sau 16	--	4 sau 8 sau 16	--	4 sau 8 sau 16	--
	Tip 3 (Unități de antigen D)	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg
8	2- Fenoxietanol	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg
9	Metilparaben	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	--	--	--	--	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg
10	Propilparabe n	0,1 mg	0,1 mg	--	--	0,1 mg	0,1 mg	--	--	0,1 mg	0,1 mg	--	-

Tabelul 26 (continuare)

S. No.	Componenți ai formulării	Compoziția combinației în corespundere cu prezenta dezvăluire per doză de 0,5 mL											
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	Toxoid difteric (D)	20 Lf	20 Lf	20 Lf	20 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf
2	Toxoid tetanos (T)	4 Lf	4 Lf	4 Lf	4 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf
3	Antigen B. pertussis inactivat (wP)	14 IOU	14 IOU	14 IOU	14 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU
4	Antigen HBs	15 μg	15 μg	15 μg	15 μg	15 μg	15 μg	15 μg	15 μg	15 μg	15 μg	15 μg	15 μg
5	Antigen conjugat PRP-TT Hib	10 μg de PRP	10 μg de PRP	10 μg de PRP	10 μg de PRP	13 μg de PRP	13 μg de PRP	13 μg de PRP	13 μg de PRP	13 μg de PRP	13 μg de PRP	13 μg de PRP	13 μg de PRP
6	Virus de poliomelită inactivat (IPV)												
	Tip 1 (Unități de antigen D)	5 sau 10 sau	5 sau 10 sau	5 sau 10 sau	5 sau 10 sau	5 sau 10 sau	5 sau 10 sau	5 sau 10 sau	5 sau 10 sau	5 sau 10 sau	5 sau 10 sau	5 sau 10 sau	5 sau 10 sau 20

		20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	
	Tip 2 (Unități de antigen D)	4 sau 8 sau 16	--	4 sau 8 sau 16	--	4 sau 8 sau 16	--	4 sau 8 sau 16	--	4 sau 8 sau 16	--	4 sau 8 sau 16	--
	Tip 3 (Unități de antigen D)	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32	10 sau 16 sau 32
7	Conținut total de aluminiu (Al ³⁺) (ca fosfat de aluminiu)	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg	Nu mai mult de 0,55 mg
8	2-Fenoxietanol	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg
9	Metilparaben	--	--	--	--	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	--	--	--	--
10	Propilparaben	0,1 mg	0,1 mg	--	--	0,1 mg	0,1 mg	--	--	0,1 mg	0,1 mg	--	--

Ajustarea suplimentară a pH-ului compoziției precum este dezvăluit mai sus de la 6,0 la 7,0 cu hidroxid de sodiu/carbonat de sodiu și formarea volumului prin adăugarea de ser fiziologic normal (0,9%). Vaccinul poate conține urme de glutaraldehidă, formaldehidă, neomicină, streptomicină și polimixină B care sunt folosite pe durata procesului de fabricare.

Exemplul 2

Proces de producere a volumului de *Haemophilus influenzae* de tip b conjugat.

O viziune largă a etapelor de producere. Fiecare din cele 53 de etape ale procesului sunt descrise sumar mai jos:

Etapa 1: Etapa de inoculare I cu agitarea balonului (S1).

O fiolă cu lotul de înseminare de lucru este folosită pentru a inocula stadiul de inoculare I cu agitarea balonului, care conține mediu de înseminare filtrate prin 0,22 μm. Un balon PETG de unică folosință de 125 mL cu un volum de lucru de 25 mL este folosit. Această etapă este realizată într-un agitator al incubatorului cu agitare controlată (200 ± 50 rpm) și temperatura (36 ± 2°C). După realizarea unei creșteri bacteriene dorite (OD₅₉₀ ≥ 1,0), cultura este transferată la următoarea etapă de inoculare (Etapa S2), care este descrisă în etapa 2. Colorarea Gram este efectuată ca un proces de control pentru a asigura puritatea culturii (cocobacili Gram-negativi).

Etapa 2: Etapa de inoculare II cu agitarea balonului (S2).

Etapa de inoculare S2 constă din baloane Fernbach de 2 L (S2A și S2B) cu un volum de lucru de 800 mL. Balonul S2A este folosit pentru măsurarea OD₅₉₀, până când OD₅₉₀ este în criteriile acceptate și balonul S2B este folosit pentru etapa de inoculare S3. Ambele baloane sunt încărcat cu mediu sterilizat prin filtrare, care este identic cu etapa de inoculare S1. Balonul etapei S1 este folosit pentru a inocula ambele baloane de agitare a etapei II. Această etapă este realizată într-un agitator al incubatorului cu agitare controlată (200 ± 50 rpm) și temperatura (36 ± 2 °C). După realizarea unei creșteri bacteriene dorite (OD₅₉₀ ≥ 1,0), cultura este transferată la următoarea etapă de inoculare (etapa S3), care este descrisă în etapa 3. Colorarea Gram este efectuată ca un proces de control pentru a asigura puritatea culturii (cocobacili Gram-negativi).

Etapa 3: Fermentarea la etapa de inoculare III.

Etapa de inoculare S3 constă dintr-un fermentator de 120 L cu un volum de lucru de 35 L. Fermentatorul este încărcat cu un mediu care este identic cu etapele de inoculare anterioare. Balonul etapei S2 este folosit pentru a inocula fermentatorul de inoculare. Creșterea este realizată la temperatura (36 ± 2°C), DO (10% punct de setare), agitare (300...600 rpm), aerare (1...5 LPM) și contrapresiune (0,2 bar) în fermentatorul de inoculare. După realizarea unei creșteri bacteriene dorite (OD₅₉₀ ≥ 1,0), cultura este transferată la etapa de producere următoare (Etapa S4), care este descris în etapa 4. Colorarea Gram este efectuat ca un proces de control pentru a asigura puritatea culturii (cocobacili Gram-negativi).

Etapa 4: Producerea prin fermentare la scara de 1200 L.

Fermentatorul de producere de 1200 L are un volum de lucru de 800 L. El este încărcat cu componentele de bază ale mediului și sterilizate cu vapori *in situ*. Ulterior, diverse suplimente ale mediului sunt adăugate după trecerea prin-un filtru de 0,22 μm. Fermentatorul este inoculat cu cultura etapei S3 obținută din etapă 3. Fermentarea este efectuată în oxigen dizolvat controlat (20% - punct de setare), temperatura ($36 \pm 2^\circ\text{C}$), pH (7,1-7,4), agitare (40...400 rpm), aerare (50...300 LPM) și contrapresiune (0,2 bar). Două maxime discrete de nutrienți sunt adăugate pe durata cursului de fermentare. Creșterea este monitorizată de măsurarea OD₅₉₀ ($\text{OD}_{590} \geq 3,5$) și fermentarea este considerată completă după atingerea etapei staționare. Pe durata creșterii și fazei staționare, produsul polizaharidic este secretat și se acumulează în bulionul de cultivare. Colorarea Gram este efectuat ca un proces de control pentru a asigura puritatea culturii (cocobacili Gram-negativi).

Etapa 5: Tratamentul cu formalină.

Reducerea supraîncărcării este realizată în această etapă folosind agentul chimic (formalina). Formalina de 0,1% este adăugată și bulionul fermentat este incubat pentru NLT 2 ore la temperatura de 37°C. După tratament cu formalină, vesela este răcită rapid la <15°C. Adiția formalinei este validată pentru a atinge reducerea supraîncărcării. Acest lucru este verificat de plăcile de cultură după perioada de incubare. Bulionul cu supraîncărcarea redusă este gata pentru colectare așa cum este descris în etapa 6.

Etapa 6: Recoltarea continuă prin centrifugare.

Centrifugarea continuie este implicată ca o etapă primară a recoltării. Această etapă este efectuată pentru a separa bulion crud ce conține polizaharide din biomasa inactivată. O centrifugare continuie este folosită cu scopul de a înlătura >90% din biomasă, precum a fost măsurat măsurat de reducerea OD₅₉₀. Centrifugarea este operată la aproximativ 15000 rpm și la o rată de curgere a lichidului de 200...500 L/oră. Supernatantul centrifugat este în continuare procesat așa cum este descris în etapa 7.

Etapa 7: Filtrare profundă 50LP.

Supernatantul centrifugat este trecut printr-un filtru profund 50LP pentru a înlătura materialul grosier precum resturile celulare. Etapa permite ca produsul să treacă prin filtru, și este în-linie cu un filtru profund suplimentar, așa cum este descris în etapa 8.

Etapa 8: Filtrare profundă 90LP.

Filtratul din filtrarea profundă 50LP este în continuare trecut printr-un filtru profund 90LP (capacitatea nominală 0,22 μm) pentru a elimina în continuare orice material insolubil care n-a fost reținut anterior de filtrul profund. Această etapă asigură ca filtratul este în esență lipsit de resturi celulare, și poate trece printr-un filtru de 0,22 μm ușor. Etapa ulterioară de filtrare este descrisă în etapa 9.

Etapele 9 și 10: Filtrarea cu 0,22 μm.

Filtratul din filtrarea profundă de 90 LP este în continuare trecut printr-un filtru de 0,22 μm, și filtratul este colectat în rezervorul de păstrare.

Etapele 11 și 12: Concentrarea și diafiltrarea cu 100kD.

Această etapă este realizată pentru a înlătura componentele mediului și impuritățile cu masă moleculară mică. În plus, concentrarea este efectuată pentru a reduce volumul de lucru. Înlăturarea greutatei moleculare de 100 kD este realizată deoarece masa moleculară a polozaharidei Hib (PRP) este ≥ 500 kD. Bulionul este concentrat de aproximativ 10 ori și ulterior diafiltrat până la 5 volume NLT folosind tampon PBS de 0,01 M (pH 7,2). Produsul rezultat în rămășiță este menționat ca "PRP crud" și este în continuare procesat așa cum este descris în etapa 13. Bulionul concentrat este transferat către zona DSP prin portul de transfer prin intermediul filtrului 0,22 μm pentru a se asigura că nici o bacterie nu este transportată în zona DSP.

Etapa 13: Precipitarea CTAB.

CTAB (bromură de cetil-trimetil amoniu) este un detergent cationic, care este folosit pentru precipitarea polizaharidelor. CTAB constă dintr-o regiune hidrofilică precum și o parte hidrofobă, și precipită proteinele, acizii nucleici și polizaharidele. PRP-ul crud obținut din etapă 12 este precipitat la o concentrarea CTAB de 1% și incubat pentru > 2 ore. Colectarea peletelor CTAB este descrisă în etapa 14.

Etapele 14, 15 și 16: Centrifugarea, colectarea și depozitarea peletelor CTAB.

Peletele SEZ-3, FF, CTAB sunt centrifugate folosind centrifugarea continuie la 15000 rpm. Pelete CTAB sunt colectate, cântărite, alicotate și sunt depozitate la ≤ -20°C pentru procesarea ulterioară. Aceasta este prima etapă de reținere a procesului.

Etapele 17 și 18: Dezghețarea și dizolvarea pastei CTAB.

Pasta CTAB înghețată este dezghețată la temperatura camerei. Peletele dezghețată sunt dizolvate în soluție de NaCl de 5,85%. Dizolvarea este realizată într-un rezervor pentru agitare și produsul polizaharidic este solubilizat în faza apoasă. Rezervorul conține ceva material nedizolvat, care vine din proteina și acizii nucleici precipitați. Această suspensie este în continuare procesată așa cum este descris în etapa 19.

Etapa 19: Centrifugarea.

Materialul obținut din etapă 18 este centrifugat la 2...8 °C, cu 5000...6500 rpm, timp de 20...30 minute pentru a înlătura materialul nedizolvat. Supernatantul centrifugat este colectat, și în continuare procesat așa cum este descris în etapa 20.

5 **Etapa 20: Precipitarea cu etanol de 72%.**

Etanolul de 72% este folosit pentru precipitarea PRP. Etanolul de 96% este folosit să genereze o concentrarea a etanolului de 72% în raport cu supernatantul obținut în etapa 19. Această precipitare este realizată la 2...8 °C peste noapte. Precipitatul rezultat este colectat așa cum este descris în etapa 21.

10 **Etapele 21 și 22: Centrifugarea și dizolvarea peletelor.**

Precipitatul obținut după tratare cu etanolul de 72% este colectat prin centrifugare la 2...8°C, cu 5000...6500 rpm, timp de 20...30 minute. Peletele rezultate sunt dizolvate în W.F.I. până când se obține o claritate vizuală. Prelucrarea ulterioară a peletelor solubilizate este descrisă în etapa 23.

15 **Etapa 23: Precipitarea cu etanol de 32% și DOC.**

La materialul obținut din etapă 22, 6% acetat de sodiu și 1% deoxicolat de sodiu (DOC) este adăugat. Etanolul de 96% este folosit să genereze o concentrarea finală a etanolului de 32%. Ambele DOC și alcoolul de 32% conduc la precipitarea impurităților proteice, în timp ce permite polizaharidelor să rămână faza lichidă. Această precipitare este realizată la 2...8 °C peste noapte (NLT 8 ore).

20 **Etapa 24: Centrifugarea.**

Materialul obținut din etapă 23 este centrifugat la 2...8°C, cu 5000...6500 rpm, timp de 20...30 minute pentru a înlătura precipitarea. Supernatantul centrifugat este colectat și în continuare procesat așa cum este descris în etapa 25.

25 **Etapa 25: Filtrarea profundă și pe carbon.**

Soluția supernatantă obținută în etapa 24 conține PRP solubil și este supus la filtrării profunde urmată de filtrare pe carbon pentru a înlătura acizii nucleici și coloranții. Înlăturarea acizilor nucleici este monitorizată de măsurarea absorbției intermitente la 260 nm (A_{260}). După ce obiectivul A_{260} este atins soluția este filtrată printr-un filtru de 0,22 μm și această soluție filtrată în continuare procesată așa cum este descris în etapa 26.

30 **Etapa 26: Precipitarea cu etanol de 64%.**

Materialul filtrat obținut în etapa 25 este în continuare precipitat cu etanol de 96% până la o concentrarea finală a etanolului de 64%. Această precipitare este realizată la 2...8°C peste noapte. Precipitatul rezultat este colectat prin centrifugare, și în continuare procesat așa cum este descris în etapa 27.

35 **Etapa 27: Colectarea și dizolvarea peletelor.**

Supernatantul este decantat și aruncat pentru a colecta peletele. Peletele sunt dizolvate în W.F.I. la temperatura camerei.

40 **Etapa 28: Concentrarea și diafiltrare de 300 kD.**

Soluția peletelor dizolvate este concentrată folosind membrana NMWCO de 300 kD. Aceasta este în continuare diafiltrată nu mai puțin decât 8X (NLT) folosind W.F.I. Rămășița rezultată este procesată în continuare așa cum este descris în etapa 29.

45 **Etapele 29 și 30: Filtrarea prin 0,22 μm și depozitarea PRP-ului purificat.**

Rămășița UF de 300 kD este trecută prin-un filtru de 0,22 μm ca o etapă de clarificare pentru a evita încărcarea biologică. PRP-ul purificat rezultat este alicotat și este depozitat la $\leq -20^\circ\text{C}$ până la utilizarea ulterioară așa cum este descris în etapa 31. Proba de PRP purificat este trimis la analiza.

50 **Etapa 31: Dezghețarea și unificarea.**

Pe baza dimensiunii lotului conjugat cantitatea necesară de polizaharidă nativă obținută în etapă 30 este dezghețată. Materialul unificat este analizat pentru conținutul PRP, care este necesar pentru prelucrarea ulterioară așa cum este descris în etapa 32.

55 **Etapa 32: Concentrarea de 100 kD.**

Polizaharidele purificate unificate trebuie să fie de o concentrare minimă (8...12 mg/mL) pentru prelucrarea ulterioară. Dacă concentrația polizaharidelor unificate este de mai joasă decât cea dorită, soluția polizaharidelor unificate este concentrată folosind o membrana NMWCO UF de 100 kD.

Proba este extrasă după concentrare pentru a asigura că concentrația minimă este atinsă pentru etapele ulterioare (etapă 33).

60 **Etapa 33: Depolimerizarea alcalină.**

Polizaharida concentrată (echivalent la 74g/110g) obținută din etapă 32 este depolimerizată în condiții alcaline moi folosind tamponul carbonat-bicarbonat. După ce dimensiunile dorite ale polizaharidei sunt atinse, polizaharida depolimerizată este activată așa cum este descris în etapa 34.

65 **Etapa 34: Activarea polizaharidelor.**

Polizaharida depolimerizată obținută în etapa 33 este activată folosind bromură de cianogen. Această activare este făcută în mediu de azot. Bromură de cianogen este un reagent foarte toxic și măsurile speciale sunt respectate în timp lucrului cu acest reagent.

Etapa 35: Anexarea linkerului.

5 Soluția dihidrazidei acidului adipic proaspăt preparată (ADH) este adăugat în 6...10 minute la amestecul de reacție obținut din etapă 34. Reacția este realizată pentru NLT 16 ore la 2...10°C. Rolul linker-ului ADH este de a oferi grupe amine în polizaharida necesare pentru reacția de conjugare.

Etapa 36: Concentrarea și diafiltrarea.

10 Amestecul de reacție obținut din etapă 35 este concentrat și diafiltrat volum cu volum cu soluție tampon fosfat salin (PBS) folosind membrana NMWCO UF de 10 kD pentru a înlătura ADH-ul liber. Înlăturarea ADH-lui este monitorizată prin HPLC și diafiltrarea este continuată până când nivelul ADH liber atinge valoarea de mai jos 5%. Rămășița rezultată este în continuare diafiltrată cu tampon MES-NaCl NLT 5X. Aceasta este în continuare concentrată pentru a atinge o concentrație de NLT de 20 mg/mL. Acest PRP-ul procesat concentrat este păstrat la temperatura de 2...8°C până la utilizarea ulterioară așa cum este descris în etapa 37.

Etapele 37 și 38: filtrarea prin 0,22 μm și depozitarea PRP-ul procesat.

20 Rămășiță din etapă 36 este trecută printr-un filtru de 0.22 μm, care servește ca o etapă de clarificare. Aceasta de asemenea asigură că nivelurile biosarcinelor sunt controlate pe durata procesul, care este efectuat în domeniul de grade C. Polizaharida activată filtrată este colectată, eșantionată, alicotată și este depozitată la temperatura de 2...8°C până la prelucrarea ulterioară. O probă este extrasă din rezerva de polizaharidă procesată pentru analiza, care include mărimea moleculară PRP (kD), conținutul PRP, și gradul de activare PRP. Prelucrarea ulterioară a PRP-ului procesat este descris în etapa 40.

Etapa 39: Concentrarea și diafiltrarea TT de 10 kD.

25 Reacția de conjugare necesită doi componenți anume polizaharida procesată și proteina purtătoare (TT). Proteina purtătoare este concentrată și diafiltrată cu tamponul MES-NaCl folosind membrana NMWCO UF de 10 kD. Această proteină purtătoare diafiltrată este apoi concentrată în continuare la NLT de 20 mg/mL folosind aceeași membrană.

Etapa 40: Conjugarea.

30 Reacția de conjugare necesită doi componenți, anume polizaharida procesată și proteina purtătoare (TT). Componentul polizaharidei activate este obținut din etapă 38. Proteina purtătoare este obținut din etapă 39. Doi componenți sunt amestecați în cantități corespunzătoare în raport de PRP: TT = 1:1 (w/w) în prezență de EDC la agitare. Reacția de conjugare este monitorizată prin HPLC și este continuată până la conversia de ≥ 85% a proteinei (bazată pe conversia proteinei libere în conjugate) este atinsă.

Etapa 41: Întreruperea.

35 După reacția de conjugare a continuat la criteriile sale de acceptare pentru conversia (etapă 40), reacția este terminată prin întrerupere. Reacția de conjugare este întreruptă folosind tampon fosfat EDTA. Această reacție de conjugare este ulterior procesată așa cum este descris în etapa 42.

Etapa 42: 30 SP și filtrarea de 0,22 μm.

40 Conjugatul obținut din etapă 41 este filtrat printr-un filtru 30 SP urmată de filtrarea prin 0,22 μm. Aceasta asigură înlăturarea oricăror agregate mari. Filtratul conjugat este procesat așa cum este descris în etapa 43.

Etapa 43: Ultrafiltrarea și diafiltrarea de 300 kD.

45 Amestecul reacției de conjugare obținut din etapă 42 este diafiltrat cu ser fiziologic normal de 0,05% folosind membrana NMWCO UF 300 kD. Diafiltrarea este efectuată pentru a înlătura reagenții de conjugare și TT nereacționat. Rămășița rezultată este în continuare procesată așa cum este descris în etapa 44.

Etapele 44 și 45: Filtrarea prin 0,22 μm și depozitarea conjugatului crud.

50 Rămășiță din etapă 43 este trecută printr-un filtru prin 0,22 μm, care servește ca o etapă de clarificare. Aceasta de asemenea asigură că nivelurile biosarcinelor sunt controlate pe durata procesului, care este efectuat în domeniul de grade C. Conjugatul crud filtrat este colectat, eșantionat și este depozitat la temperatura de 2...8°C până la prelucrarea ulterioară. Prelucrarea ulterioară a conjugatului crud este descris în etapa 46.

Etapa 46: Diluarea conjugatului crud.

55 Un conjugat crud din etapă 45 este diluat cu W.F.I. la o concentrație dorită de 4±1 mg/mL, dacă este necesar și în continuare procesat prin precipitare precum este descris în etapa 47.

Etapa 47: Precipitarea cu sulfat de amoniu.

Amestecul de reacție conjugat diluat este în continuare procesat pentru a înlătura PRP-ul liber folosind sulfatul de amoniu (50% m/v soluție stoc). Etapa de precipitare este realizată la mai puțin de 15°C la agitare. Etapa de precipitare conduce la precipitarea conjugatului, și lasă PRP-ul liber în

supernatant. După adăugarea sulfatului de amoniu suspensia rezultată este depozitată la mai puțin de 15°C fără agitare pentru NLT 12 ore.

Etapa 48: Colectarea și dizolvarea peletelor.

Suspensia obținută din etapă 47 este centrifugată la ~7000 g la temperatura de 2...8°C, timp de 40±10 minute. Supernatantul este aruncat prin decantare și peletele obținut sunt dizolvate în Tris-ser fiziologic normal.

Etapa 49: Diafiltrarea de 300 kD.

Soluția rezultată din etapă 48 este filtrată printr-un filtru profund 30 SP și diafiltrat cu Tris-ser fiziologic normal de 20 mM folosind membrana NMWCO kD 300.

Etapa 50: Purificarea prin cromatografie GPC.

Soluția rezultată din etapă 49 este încărcată pe o coloană GPC de aproximativ 70 L ce conține gel granulat din polimer metacrilic hidroxilat Toyopearl HW-65F pentru cromatografia de excludere a mărimii. Utilizarea cromatografiei GPC pentru conjugatul procesat (post-sulfat de amoniu) reduce nivelurile PRP-ului liber în materialul rezultat. Coloana este eluată cu NaCl de 0,9% Tris de 20 mM, și fracțiile sunt colectate pe bază de A_{280} . Frațiile corespunzătoare bazate pe criteriile de acceptare cu referire la PRP-ul liber, raportul și dimensiunea moleculară sunt unificate, și unificatul este în continuare procesat, așa cum este descris în etapa 51.

Etapa 51: Diafiltrarea de 300 kD.

Conjugatul unificat rezultat eluat din etapă 50 este diafiltrat cu Tris de 20 mM folosind membrana NMWCO UF 300 kD. Acest volum rămas este vizat astfel încât conținutul PRP în el este de aproximativ 1 mg/mL.

Etapele 52 și 53: Filtrarea prin 0,22 μm.

Volumul conjugatului obținut din etapă 51 este filtrat printr-un filtru de 0,22 μm în condițiile mediului de grad A pentru a asigura sterilitatea. Filtrul de 0,22 μm este testat pentru integritate. O probă din volumul filtrat conjugat este trimis la Q.C. pentru analiză completă. Filtratul conjugat este etichetat ca "Volum de conjugat steril Hib" și este depozitat la temperatura de 2...8°C. Volum conjugatului va fi depozitat la temperatura de 2...8°C pentru maximum 3 luni și ulterior dacă nu este utilizat, el poate fi este depozitat la temperatura de -70°C pentru o durată totală de până la 1 an.

Caracteristici calitative ale antigenului conjugat PRP-TT Hib obținute după cum urmează:

Conținutul PRP (μg/0,5ml)	: 8,1
Raport (PRP:TT)	: 0,5
PRP-ul liber (%)	: 4,8%
PMW (kD)	: 983
Avg MW (kD)	: 752.

Exemplul 3

Procesul de fabricare a antigenului inactivat wP

Metodă de inactivare a antigenului pertussis cu celule întregi (wP).

Optimizarea metodei de inactivare este făcută după realizarea diferitor experimente care includ inactivarea la temperatura de 56°C pentru 10 min în prezență de formaldehidă, la temperatura de 56°C, pentru 15 min în prezență de formaldehidă, la temperatura de 56°C pentru 10 min în prezența himinei, la temperatura de 56°C pentru 15 min în prezența himinei și doar încălzirea la temperatura de 56°C pentru 30 min. Nici o diferență semnificativă în potența se observă cu aceste metode. În afara acestor metode, la temperatura de 56°C pentru 10 min în prezența formaldehidei este selectat deoarece masa de celule pertussis produsă folosind această metodă este mai mult omogenă în comparație cu alte metode menționate mai sus.

Procesul de fabricare a antigenului inactivat wP include următoarele etape

- inactivarea la temperatura de 56°C, timp de 10...15 minute în prezență de formaldehidă a tulpinii *Bordetella pertussis* 134;
- inactivarea la temperatura de 56°C, timp de 10...15 minute în prezență de formaldehidă a tulpinii *Bordetella pertussis* 509;
- inactivarea la temperatura de 56°C, timp de 10...15 minute în prezență de formaldehidă a tulpinilor *Bordetella pertussis* 25525 și 6229;
- inactivarea la temperatura de 56°C, timp de 10...15 minute în prezență de formaldehidă a tulpinii *Bordetella pertussis* 6229;
- amestecarea ulterioară a tulpinilor inactivate de *Bordetella pertussis* 134, 509, 25525 și 6229 într-un raport de 1:1:0,25:0,25;
- absorbția opțională pe un adjuvant bazat pe aluminiu.

Procesul este lipsit de Thiomersal și antigenul pertussis cu celule întregi inactivat rămâne neaglomerat și omogen ducând ușor la reactogenitate redusă și dând o potență mai bună pentru o durată mai lungă.

5 Exemplul 4

Proces de fabricare a virusului de poliomielită inactivată (IPV)

1. Virusul de poliomielită poate fi crescut prin metoda următoare.

α) Linia de celule CCL81-VERO (rinichi de maimuță) a fost folosită ca celule gazdă pentru creșterea virusului de poliomielită de ex. tulpinile Sabin și Salk.

10 β) După infectarea celulelor gazdă cu tulpina dorită de virus de poliomielită și incubarea timp de 72 ore, mediul ce conține virusul și resturile celulare au fost unite și colectate într-un singur container.

γ) Filtratul a fost supus filtrării tangențiale în flux cu caseta de 100 KDa; diafiltrat folosind soluție tampon fosfat și purificat folosind cromatografia de schimb ionic.

15 δ) Înainte de administrare la pacienți, virusul poate fi inactivată folosind metode de inactivare potrivite.

2. Inactivarea cu formalină include următoarele etape.

a) Setul de virus purificat a fost supus schimbului de la soluția tampon fosfat la soluția tampon Tris în limitele de la (30 la 50 mM), având pH între 7 la 7,5.

20 b) La amestecul de mai sus s-a adăugat mediul M-199 ce conține glicină (5 gm/L).

c) Formaldehida de 0,025% s-a adăugat și s-a amestecat ulterior.

d) Amestecul a fost ulterior incubat la temperatura de 37°C, timp de 5...13 zile cu agitare continuă a masei virale pe un agitator magnetic.

25 e) Amestecul după incubare a fost supus sistemului intermediar TFF (100 KDa, 0,1 m²) în ziua a 7-a și filtrării finale după inactivarea.

f) Ulterior volumul filtrat a fost depozitat la temperatura de 2...8°C.

g) Realizarea ELISA D-Ag pentru determinare unității D-Ag.

h) Volumul setului monovalent al IPV de tip 1, tip 2 și tip 3 s-a amestecat ulterior pentru a forma IPV trivalent sau bivalent (serotip Salk sau Sabin).

30 i) Ajustarea pH-ului formulării finale și obținerea formulării finale cu pH-ul între 6 și 6,8.

j) Antigenul IPV (tulpinile Sabin sau Salk) ulterior adăugat la compoziția finală de vaccin combinat adsorbit pe adjuvant (sare de aluminiu sau fosfat) prezent în vaccinul combinat în care procentul de adsorbție al antigenului IPV pentru IPV de tip 1 s-a dovedit a fi în limitele de la 10...100 %, IPV de tip 2 în limitele de la 60...100% și IPV de tip 3 în limitele de la 10...100 %.

35 3. Procedura de formulare a IPV-ului (tulpinile Sabin și Salk) când este adsorbit individual pe o sare de aluminiu.

a) Luând volumul dorit de AlPO₄ autoclavat pentru a obține concentrația finală de aluminiu (Al³⁺) între 0,1...0,8 mg/doza într-un container de 50 mL.

40 b) Adăugând volumul IPV cu unitate D-Ag ajustată și pregătind volumul cu diluant (10x M-199+ 0,5% glicină.

c) Ajustarea pH-ului formulării finale și obținerea formulării finale cu pH între 6,0 și 6,8.

4. Setul monovalent adsorbit pe aluminiu formulat corespunzător în IPV trivalent sau bivalent (serotip Salk sau Sabin).

Rezultă.

45 În care procentul adsorbției IPV de tip 1, 2, și 3 (Sabin și Salk) pe sarea de fosfat de aluminiu (AlPO₄) s-a dovedit a fi cel puțin 90 %.

Solicitantul a fost capabil să atingă reducerea dozei pentru antigenii virusului de poliomielită de 2 ori (întrucât doza standard de antigeni ai virusului de poliomielită este de tip 1...40 DU, tip 2...8 DU, tip 3...32 DU).

50

Studii de adsorbție a IPV Sabin pe fosfat de aluminiu

Tabelul 27

	Proba	Titru (per doza)	Particule de virus (în K)	% de SUP liber	% Adsorbit pe gel
Tip 1, AlPO ₄	Control	5,84	691	NA	
	Al ³⁺ 125 μg/doză	3,49	3	0,43	99,57

	Al ³⁺ 250 µg/doză	3,09	1,2	0,17	99,83
	Al ³⁺ 500 µg/doză	2,94	0,87	0,12	99,87
Tip 2, AlPO ₄	Control	5,49	309		
	Al ³⁺ 125 µg/doza	3,15	1,41	0,45	99,5
	Al ³⁺ 250 µg/doză	3,09	1,23	0,39	99,6
	Al ³⁺ 500 µg/doză	3,09	1,23	0,39	99,6
Tip 3, AlPO ₄	Control	5,59	389	NA	
	Al ³⁺ 125 µg/doză	5,34	218	56,04	43,94
	Al ³⁺ 250 µg/doză	5,24	173	44,47	55,53
	Al ³⁺ 500 µg/doză	5,16	144	37,01	63,9

Exemplul 5

Procesul de fabricare a unui vaccin combinat

Acest exemplu oferă un rezumat ale procesului de fabricare a unei compoziții de vaccin combinat care include D, T, wP, HBsAg, PRP-TT Hib conjugat, IPV și conservant:

Componentul I - toxoid difteric adsorbit pe aluminiu;

Componentul II - toxoid tetanos adsorbit pe aluminiu;

Componentul III –antigen wP (precum este dezvoltat în Exemplul 3);

Component ulIV - antigenul de suprafață a hepatitei B adsorbit pe aluminiu;

Componentul V - PRP conjugat Hib (precum este dezvoltat în Exemplul 2);

Componentul VI - antigen IPV (precum este dezvoltat în Exemplul 4).

1. Pregătirea componentului I, care include toxoid difteric adsorbit pe aluminiu:

a) transferul fosfatului de aluminiu în container/vas;

b) adăugarea toxoidului difteric;

c) ajustarea pH-lui de la 4,5 până la 5,5 cu acid acetic/hidroxid de sodiu;

d) se așteaptă stabilizarea;

e) ajustarea pH-lui la 5,5 până la 6,5 cu hidroxid de sodiu/carbonat de sodiu;

f) se așteaptă stabilizarea.

2. Pregătirea componentului II, care include aluminiu adsorbit toxoid tetanos:

a) transferul fosfatului de aluminiu în container/vas;

b) adăugarea toxoidului tetanos;

c) ajustarea pH-lui la 4,5 până la 5,5 cu acid acetic/hidroxid de sodiu;

d) se așteaptă stabilizarea;

e) ajustarea pH-lui de la 5,5 până la 6,5 cu hidroxid de sodiu/carbonat de sodiu;

f) se așteaptă stabilizarea.

3. Pregătirea componentului IV, care include antigenul de suprafață a hepatitei B adsorbit pe aluminiu:

a) transferul fosfatului de aluminiu în container/vas;

b) adăugarea antigenului de suprafață a hepatitei B;

c) ajustarea pH-lui de la 4,5 până la 5,5 cu acid acetic/hidroxid de sodiu;

d) se așteaptă stabilizarea;

e) ajustarea pH-lui de la 5,5 până la 6,5 cu hidroxid de sodiu/carbonat de sodiu;

f) se așteaptă stabilizarea.

4. Procesul de fabricare a unei compoziții de vaccin combinat, care include D, T, wP, HBsAg, PRP-TT Hib conjugat, IPV și conservant:

1. adăugarea serului fiziologic normal într-o veselă de amestecare/container;

2. adăugarea componentului I;

3. amestecarea componentului II în componentul I și agitare la RT pentru 30...45 minute;

4. adăuga componentului III în amestecul de mai sus, urmată de agitare la RT pentru 30...60 minute;
5. componentul IV se adăugă la amestecul obținut în etapa 4 urmat de agitare la RT pentru 30...60 minute;
6. componentul V se adăugă la amestecul obținut în etapa 5 urmat de agitare la temperatura de 6...16°C, timp de 30...60 minute;
7. componentul VI se adăugă la amestecul obținut în etapa 6 urmat de agitare la temperatura de 6...16°C;
8. adăuga unei din combinațiile de conservant dezvăluită mai jos la amestecul obținut în etapa 7 la temperatura de 6...16 °C:
- 10 a) 2-Fenoxietanol într-o cantitate de la 1 mg *per* 0,5 mL la 6 mg *per* 0,5 mL (v/v); sau
b) 2-Fenoxietanol într-o cantitate de la 1 mg *per* 0,5 mL la 6 mg *per* 0,5 mL (v/v) și metilparaben folosit într-o concentrație de 0,1...1,5 mg *per* 0,5 mL (m/v); sau
c) 2-Fenoxietanol într-o cantitate de la 1 mg *per* 0,5 mL la 6 mg *per* 0,5 mL (v/v) și propilparaben folosit într-o concentrație de 0,05...0,2 mg *per* 0,5 mL (m/v); sau
- 15 d) 2-Fenoxietanol într-o cantitate de la 1 mg *per* 0,5 mL la 6 mg *per* 0,5 mL (v/v), metilparaben folosit într-o concentrație de 0,1...1,5 mg *per* 0,5 mL (m/v) și propilparaben folosit într-o concentrație de 0,05...0,2 mg *per* 0,5 mL (m/v);
9. verificarea pH-ului, dacă este necesar ajustarea pH-ului de la 6,0 până la 7,5 cu hidroxid de sodi/carbonat de sodiu;
- 20 10. formarea volumului cu ser fiziologic normal (0.9%) obținut în etapa 9, urmată de agitare pentru 3 ore.

Exemplul 6

Adsorbția, potența și profilul stabilității antigenilor

- 25 Acest tabel oferă un rezumat cu privire la procentul de adsorbție a antigenilor individuali, potența și profilul stabilității antigenilor individuali în vaccinul combinat SIPL la 2-8°C într-o perioadă de 12 luni.

Tabelul 28

Test	Limite/Specificație	0 Zile	6 Luni	12 Luni
Hepatita B potența <i>in vivo</i> R.P (95% CL)	(0,61-1,12)	0,83	NA	Corespunde
Conținutul PRP Hib (μg/0,5 mL) (Total PRP)	Valoarea actuală	9,3 μg/0,5ml	8,46 μg/0,5ml	10,03
PRP-ul liber (%)		8	NA	NA
Potența componentului difteric (IU/doză)	NLT 30 IU/doză	98,5120 IU/doză (69,9650- 137,247)	NA	95,8463 IU/doză
Potența componentului tetanos (IU/doză)	NLT 40 IU/doză	139,030 IU/doză (88,2850- 208,688)	NA	382.079 IU/doză
Potența componentului pertussis (IU/doză)	NLT 4 IU/doză	4,6749 IU/doză (2,6492- 8,2763)	4,8410 IU/doza (2,7331- 8,6081)	5,131
Adsorbția: hepatita B (%)	Valoarea actuală	89,44	82,65	75,52
Adsorbția: component tetanos (%)	Valoarea actuală	63,0	59,0	NA
Adsorbția: component difteric (%)	Valoarea actuală	81,0	72,0	NA

MD 4890 B1 2024.04.30

38

Antigen D (DU/0,5 mL) (= 75 % din valoarea nominală este acceptabil)	Tip 1= 20 DU/0,5 mL	22,414	Corespunde	Corespunde
	Tip 2= 4 DU/0,5 mL	4,692	Corespunde	Corespunde
	Tip 3= 16 DU/0,5 mL	22,084	Corespunde	Corespunde
Conținut total de aluminiu	Nu mai mult de 0,6 mg/0,5 mL	0,2768	NA	NA

NA – Nu este disponibil.

Rezumat privind procentul de adsorbție a antigenilor individuali, potența și profilul stabilității antigenilor individuali în vaccinul combinat la 25±2°C într-o perioadă de 12 luni Tabelul 29

Test	Limite/Specificație	0 Zile	6 Luni	12 Luni
Hepatita B potența <i>in vivo</i> R.P (95% CL)	NLT 1,0	Corespunde	NA	Corespunde
Conținutul PRP Hib (μg/0,5 mL) (Total PRP)	Valoarea actuală	8,6 μg/0,5 mL	8,20 μg/0,5 mL	NA
Potența componentului difteric (IU/doza)	NLT 30 IU/doză	98,5120 IU/doză (69,9650-137,247)	NA	96,5482 IU/doză (65,9292-137,687)
Potența componentului tetanos (IU/doza)	NLT 40 IU/doză	139,030 IU/doză (88,2850-208,688)	NA	NA
Potența componentului pertussis (IU/doza)	NLT 4 IU/doză	4,6749 IU/doză (2,6492-8,2763)	4,5170 IU/doză (2,4894-8,2672)	3,4899 IU/doză (1,8699-6,4750)
Adsorbția: hepatita B (%)	Valoarea actuală	89,44	83,92	83,00
Adsorbția: component tetanos (%)	Valoarea actuală	59,0	31,0	40,0
Adsorbția: component difteric (%)	Valoarea actuală	79,0	72,0	69,0
Antigen D (DU/0,5 mL) (= 75% din valoarea nominală este acceptabil)	Tip 1= 20 DU/0,5 mL	22,414	Corespunde	Corespunde
	Tip 2= 4 DU/0,5 mL	4,692	Corespunde	Corespunde
	Tip 3= 16 DU/0,5 mL	22,082	Corespunde	Corespunde
Conținut total de aluminiu	Nu mai mult de 0,6 mg/0,5 mL	0,2846	NA	NA

5

NA – Nu este disponibil

Eficacitatea *in vitro* a vaccinului combinat cu doză redusă și standard IPV
Tabelul 30

Sr No	Descriere	Poliovirus de tip 1			Poliovirus de tip 3			Rezultat
		Eficacitate	Limita inferioară	Limita superioară	Eficacitate	Limita inferioară	Limita superioară	
1	IPV hexavalent cu 40-8-32 DU	253,3%	124,9%	705,6%	212,2%	95,3%	755,5%	Conform

2	IPV hexavalent cu 20-4-16 DU	164,4%	63,9%	571,3%	143,2%	64,3%	418,6%	Conform
3	IPV hexavalent cu 20-4-16 DU	170,0%	76,4%	472,5%	132,3%	62,6%	340,5%	Conform
4	Poliovaccin cu doză întregă IPV	98,5%	30,9%	279,4%	122,8%	57,3%	269,8%	Conform

Observație:

- Loturi de vaccinuri hexavalente fabricate cu concentrație IPV la jumătate de doză au arătat rezultate promițătoare ale testelor.
- Eficacitatea IPV *in vitro* a vaccinului hexavalent fabricat cu concentrație IPV la jumătate de doză s-a dovedit a fi comparabilă cu vaccinul disponibil în prezent (Polivac de pe piață fabricat de SIIPL) cu doză completă de IPV.

Exemplul 7

Testarea proficienței antimicrobiene

Inventorii prezenți, în timp ce dezvoltau vaccinurile combinate cu doze multiple ce conțin D, T, wP, Hib, HBsAg, și vaccin IPV, au efectuat teste asupra abilităților lor antimicrobiene prin adăugarea mai întâi a 2-fenoxietanolului (2-PE), care a fost convențional folosit ca un conservant din stadiul anterior, într-o concentrație de 2,5 mg/0,5 mL doză. Totuși, s-a constatat că 2-PE are activitate antimicrobiană mai slabă decât Thiomersal-ul împotriva drojdiile și fungii în vaccinul combinat bazat pe DPT.

O creștere a cantității de 2-PE (un conservant) pentru a atinge criteriile necesare poate elimina problemele de siguranță la copii mici, care sunt subiecții care trebuie să primească vaccinul și pot de asemenea afecta stabilitatea produsului final. În continuare, cantitatea de conservant(s) care trebuie să fie conținut în vaccinuri ar trebui să întrunească cerințele definite în Pharmacopeia US, Pharmacopeia Europeană, Pharmacopeia WHO, sau o combinație a acestora cu referire la siguranța vaccinului.

În această privință, inventorii prezenți au efectuat experimente într-un efort de a dezvolta o compoziție nouă care poate satisface cerințele de abilitate antimicrobiană prin combinarea 2-PE-ului cu alți conservanți precum parabenii în vaccinul combinat cu doze multiple care îndeplinește condițiile ambelor abilități de siguranță și antimicrobiană. În prezenta dezvoltare, testul de abilitate antimicrobiană a fost efectuat în conformitate cu Pharmacopeia Europeană Categoria B (EP-B) criteriile solicitate de WHO pentru produsele de vaccinare.

Detalii despre diferite combinații și concentrații ale conservanților testați cu vaccin combinat

Tabelul 31

Combinații	1	2	3	4	5	6
Metilparaben (MP)	--	0,18%	0,18%	0,18%	--	0,18%
Propilparaben (PP)	--	0,02%	0,02%	--	0,02%	0,02%
2-Fenoxietanol (PE)	0,5%	0,5%	0,4%	0,5%	0,5%	--

Screening-ul competenței antimicrobiene

Vaccinul hexavalent combinat preparat precum este dezvoltat în Exemplul 1 a fost inoculat cu un total de șase microorganisme inclusiv patru feluri diferite de bacterii – *Staphylococcus aureus* (ATCC NO - 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC NO - 9027), *Escherichia coli* (ATCC NO.- 8739) și *Staphylococcus arlettae* (izolat din mediu EMI); o drojdie - *Candida albicans* (ATCC NO - 10231), și o drojdie – *Aspergillus brasiliensis* (ATCC NO - 16404) într-o cantitate de 10^5 la 10^6 CFU/mL în vaccinul preparat la 0 ore, respectiv. Apoi, probele de bacterii, fungi, drojzii au fost colectate la 0 ore, 24 ore, 7 zile, 14 zile și 28 zile, cultivate pe medii solide, și numărul de colonii a fost calculat între 3 zile și 5 zile și jurnalul de reducere a coloniilor a fost calculat. Rezultatele sunt afișate în Tabelul 38 de mai jos.

Rezultatele testării proficienței antimicrobiene

Tabelul 32

Sr.No	Cultura	CFU	No CFUlor recuperate/mL	Rezultat
-------	---------	-----	-------------------------	----------

		recuperate/mL ale control pozitiv (0 ore)	24 ore	Ziua 7- a	Ziua 14- a	Ziua 28-a	e
Formulare 1 0.5% 2-PE	<i>S. aureus</i>	2,0 x 10 ⁵ /mL	87000	900	0	-	Conform
	<i>P. aeruginosa</i>	1,8 x 10 ⁵ /mL	28000	100	0	-	
	<i>E. coli</i>	10 x 10 ⁵ /mL	9000	0	-	-	
	<i>S. arlettae</i> (EMI)	2,8 x 10 ⁵ /mL	114000	1600	100	0	
	<i>C. albicans</i>	1,9 x 10 ⁵ /mL	NA	400	0	-	
	<i>A. brasiliensis</i>	2,4 x 10 ⁵ /mL	NA	1600	100	0	

Formulare 2 0.5% 2- PE+0.18%MP+0.02%PP	<i>S. aureus</i>	2,0 x 10 ⁵ /mL	0	-	-	-	Conform
	<i>P. aeruginosa</i>	1,8 x 10 ⁵ /mL	0	-	-	-	
	<i>E. coli</i>	10 x 10 ⁵ /mL	0	-	-	-	
	<i>S. arlettae</i> (EMI)	2,8 x 10 ⁵ /mL	0	0	-	-	
	<i>C. albicans</i>	1,9 x 10 ⁵ /mL	NA	0	-	-	
	<i>A. brasiliensis</i>	2,4 x 10 ⁵ /mL	NA	0	-	-	
Formulare 3 0.4% 2- PE+0.18%MP+0.02% PP	<i>S. aureus</i>	2,0 x 10 ⁵ /mL	10	0	-	-	Conform
	<i>P. aeruginosa</i>	1,8 x 10 ⁵ /mL	0	-	-	-	
	<i>E. coli</i>	10 x 10 ⁵ /mL	0	-	-	-	
	<i>S. arlettae</i> (EMI)	2,8 x 10 ⁵ /mL	10	0	-	-	
	<i>C. albicans</i>	1,9 x 10 ⁵ /mL	NA	0	-	-	
	<i>A. brasiliensis</i>	2,4 x 10 ⁵ /mL	NA	0	-	-	
Formulare 4 0.5% 2- PE+0.18%MP	<i>S. aureus</i>	2,0 x 10 ⁵ /mL	10	0	-	-	Conform
	<i>P. aeruginosa</i>	1,8 x 10 ⁵ /mL	170	10	0	-	
	<i>E. coli</i>	10 x 10 ⁵ /mL	0	-	-	-	
	<i>S. arlettae</i> (EMI)	2,8 x 10 ⁵ /mL	20	0	-	-	
	<i>C. albicans</i>	1,9 x 10 ⁵ /mL	NA	0	-	-	
	<i>A. brasiliensis</i>	2,4 x 10 ⁵ /mL	NA	0	-	-	
Formulare 5 0.5% 2- PE+0.02%PP	<i>S. aureus</i>	2,0 x 10 ⁵ /mL	20	0	-	-	Conform
	<i>P. aeruginosa</i>	1,8 x 10 ⁵ /mL	0	-	-	-	
	<i>E. coli</i>	10 x 10 ⁵ /mL	10	0	-	-	
	<i>S. arlettae</i> (EMI)	2,8 x 10 ⁵ /mL	100	0	-	-	
	<i>C. albicans</i>	1,9 x 10 ⁵ /mL	NA	0	-	-	
	<i>A. brasiliensis</i>	2,4 x 10 ⁵ /mL	NA	10	0	-	
Formulare 6 0.18%MP+0.02% PP	<i>S. aureus</i>	2,0 x 10 ⁵ /mL	70000	700	0	-	Conform
	<i>P. aeruginosa</i>	1,8 x 10 ⁵ /mL	21000	0	0	-	
	<i>E. coli</i>	10 x 10 ⁵ /mL	6000	0	0	-	
	<i>S. arlettae</i> (EMI)	2,8 x 10 ⁵ /mL	101000	900	0	-	
	<i>C. albicans</i>	1,9 x 10 ⁵ /mL	NA	100	0	-	
	<i>A. brasiliensis</i>	2,4 x 10 ⁵ /mL	NA	700	0	-	

NA – Nu este disponibil; 0,5% 2-PE - 2,5 mg/0,5 mL doză; 0,4% 2-PE - 2 mg/0,5 mL doză; 0,18%MP - 0,9 mg/0,5 mL doză; 0,02%PP - 0,1mg/0,5 mL doză; CFU- unitate de formare a coloniei.

5 Observație:

- S-a observat că toate vaccinurile hexavalente fabricate la diferite combinații au fost găsite corespunzătoare cu eficacitatea de conservare în conformitate cu Farmacopeia Europeană Categoria B. Totuși, eficacitatea s-a dovedit a fi variată când diferite combinații au fost folosite.

- Eficacitatea de conservare a vaccinului hexavalent ce conține 2-PE, MP și PP s-a dovedit a fi foarte eficientă în comparație cu alte combinații de conservant anume doar 2-PE, 2-PE cu PP, 2-PE cu MP și PP cu MP.
- De remarcat de asemenea că eficacitatea conservantului vaccinului hexavalent ce conține 0,5% 2-PE cu PP și MP s-a dovedit a fi mai mult efectivă în comparație cu asemenea combinații, dar cu 0,4% 2-PE.

Exemplul 8

Vaccin combinat cu doză redusă SIPL's contra Easy Six (Panacea)

Acest tabel oferă o comparație a procentajului de adsorbției a antigenilor individuali, potența, conținutul PRP liber între vaccin combinat cu doză redusă SIPL's și Easy Six (Panacea).

Tabelul 33

Descrierea testelor	SIPL Vaccin hexavalent cu doză redus IPV	Panacea Easy Six™ vaccin combinat cu doză completă de IPV
Potența HB <i>in vitro</i> (μg/mL)	46,969	23,167
Adsorbția HB (%)	91,8	Mai mult decât 90,0
Potența <i>in vivo</i> HB	1,18	0,71(0,42-1,13)
Total PRP (μg/0,5 mL)	9,18	13,20
PRP-ul liber (%)	9,0	19,45
Formaldehidă liberă (% M/V)	0,0011	0,0011
2-PE (% M/V)	0,499	0,660
Adsorbția difterică (%)	82	38
Adsorbția tetanos (%)	63	30
Tip 1 (DU/0,5 mL)	22,414	43,504
Tip 2 (DU/0,5 mL)	4,692	8,056
Tip 3 (DU/0,5 mL)	22,084	39,84
Aluminiu (mg/doză)	0,2846	0,6034
Eficacitatea <i>in vitro</i> IPV de tip-1	170,0%	Netestat
IPV de tip-3	132,3%	
Potența difterică	98,5120 IU/doză (69,9650-137,247)	Mai mult decât 40
Potența tetanos	139,030 IU/doză (88,2850-208,688)	Mai mult decât 50
Potența pertussis	4,6749 IU/doză (2,6492-8,2763)	3,2221(1,8032-5,7706)

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. EP 1028750 B1 2006.02.01
2. Kurosky, et. al. Effects of Combination Vaccines on hepatitis B Vaccine Compliance in children in the United States; The Pediatric Infectious Disease Journal. 2017, vol. 36(7), e 189-e196
3. WO 99/48525 A1 1999.11.11
4. WO 93/24148 A11993.12.09
5. WO 9700697 A1 1997.01.09
6. WO 0030678 A1 2000.06.02
7. WO 2008028956 A1 2008.03.13
8. WO 2005089794 A2 2005.09.29
9. US 6013264 A 2000.01.11
10. WO 2010046934 A1 2010.04.29
11. WO 2008020322 A2 2008.02.21
12. WO 2012093406 A2 2012.07.12

(57) Revendicări:

1. Compoziție imunogenică cu doze multiple complet lichidă, în care 0,5 ml de compoziție include oricare din următorii:

(i) un toxoid difteric (D), într-o cantitate de la 10 Lf până la 25 Lf, adsorbit pe un adjuvant din sare de aluminiu, având un procent de adsorbție de cel puțin 50%;

(ii) un toxoid tetanos (T), într-o cantitate de la 2 Lf până la 10 Lf, adsorbit pe un adjuvant din sare de aluminiu, având un procent de adsorbție de cel puțin 40%;

(iii) celule întregi inactivate de pertussis (wP), ce conține *Bordetella pertussis* inactivat, tulpinile 134, 509, 25525 și 6225 într-un raport de 1:1:0,25:0,25, într-o cantitate de la 12 IOU până la 16 IOU;

(iv) un antigen de suprafață al virusului hepatitei B (HBsAg), într-o cantitate de la 7 μg până la 15 μg, adsorbit pe un adjuvant din sare de aluminiu, având un procent de adsorbție de cel puțin 50%;

(v) un antigen *Haemophilus influenzae* de tip b (Hib), într-o cantitate de la 7 μg până la 13 μg;

(vi) un antigen al virusului de poliomielită inactivat (IPV), ce conține IPV de tip 1 într-o cantitate de 1...25 DU, IPV de tip 2 într-o cantitate de 1...10 DU și IPV de tip 3 într-o cantitate de 1...20 DU; și

(vii) un conținut total de aluminiu (Al^{3+}) în intervalul de la 0,1 mg până la 0,6 mg; și

(viii) conservant ca 2-fenoxietanol într-o cantitate de 1...6 mg (v/v); metilparaben într-o cantitate de 0,1...1,5 mg (m/v) și propilparaben într-o cantitate de 0,05...0,2 mg (m/v); sau

2-fenoxietanol într-o cantitate de 1...6 mg (v/v) și metilparaben într-o cantitate de 0,1...1,5 mg (m/v); sau

2-fenoxietanol într-o cantitate de 1...6 mg (v/v) și propilparaben într-o cantitate de 0,05...0,2 mg (m/v).

2. Compoziție imunogenică, conform revendicării 1, în care antigenul Hib este o zaharidă poliribosilribitol fosfat (PRP) Hib conjugată la o proteină purtătoare folosind o chimie de conjugare prin cianilare sau o chimie de conjugare prin aminare reductivă, în care reagentul de cianilare menționat este selectat din bromură de cianogen, 1-ciano-4-dimetilaminopiridiniu tetrafluorborat (CDAP), 1-ciano-4-pirolidinopiridiniu tetrafluorborat (CPPT), 1-cianoimidazol, și anume (1-CI), 1-cianobenzotriazol (1-CBT) sau 2-cianopiridazin-3(2H)-ona (2-CPO); și proteina purtătoare este selectată dintr-un grup, care include toxoid tetanos, CRM₁₉₇, toxoid difteric, complex al membranei externe *Neisseria meningitidis*, fragmentul C al toxoidului tetanos, toxoid pertussis, proteina D a *H. influenzae*, *E. coli* LT, ST *E. coli*, și exotoxina A din *Pseudomonas aeruginosa*, membrana externă a complexului c (OMPC), porine, proteinele care leagă transferina, pneumolizina, proteina A de suprafață pneumococică (PspA), adezina A de suprafață pneumococică (PsaA), PhtD pneumococic, proteina de suprafață pneumococică BVH-3 și BVH-11, antigen protectiv (PA) al *Bacillus anthracis* și factor de edem detoxifiat (EF) și factor letal (LF) al *Bacillus anthracis*, ovalbumina, hemocianina de limpet gaură (KLH), albumină serică umană, albumină serică bovină (BSA), derivat proteic purificat al tuberculei (PPD), peptide sintetice, proteine de șoc termic, proteine pertussis, citokine, limfokine, hormoni, factori de creștere, proteine artificiale care includ epitopi multipli ai celulelor T CD4+ umane din diverși antigeni derivați din agenți patogeni ca N19, proteine de adsorbție a fierului, toxină A sau B din proteinele *C. difficile* și *S. agalactiae* cu sau fără linker.

3. Compoziție imunogenică, conform revendicării 1, în care antigenii IPV sunt tulpini Salk selectate din grupul Mahoney, MEF-1, Saukett, sau tulpini Sabin selectate din grupul Sabin de tip 1, Sabin de tip 2 sau Sabin de tip 3.

4. Compoziție imunogenică, conform revendicării 1, în care D, T și HBsAg sunt adsorbiți individual pe un adjuvant selectat din grupul format din sare de aluminiu (Al^{3+}) ca hidroxid de aluminiu ($Al(OH)_3$) sau fosfat de aluminiu ($AlPO_4$).

5. Compoziție imunogenică, conform revendicării 1, în care antigenii IPV sunt adsorbiți pe sare de fosfat de aluminiu ($AlPO_4$), având un procent de adsorbție al IPV de tip 1 într-un interval de 10...100%, IPV de tip 2 într-un interval de 60...100% și IPV de tip 3 într-un interval de 10...100%.

6. Compoziție imunogenică, conform revendicării 1, în care procentajul de adsorbție a antigenului Hib pe orice adjuvant este mai mic de 20%.

7. Compoziție imunogenică, conform revendicării 1, în care compoziția conține suplimentar un mediu de diluție sau un tampon selectat din clorură de sodiu sau soluție tampon fosfat salin.

8. Compoziție imunogenică, conform revendicării 7, în care compoziția include clorură de sodiu ca mediu de diluție sau tampon într-o concentrație de la 0,5% până la 1,5%.

9. Compoziție imunogenică, conform revendicării 1, în care 0,5 mL de compoziție include oricare din următorii:

tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); metilparaben într-o cantitate de 0,9 mg (m/v); sau

c) antigen D într-o cantitate de 25 Lf; antigen T într-o cantitate de 10 Lf; antigen wP într-o cantitate de 16 IOU; HBsAg într-o cantitate de 15 μ g; antigen Hib într-o cantitate de 13 μ g; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); metilparaben într-o cantitate de 0,9 mg (m/v).

16. Compoziție imunogenică, conform revendicării 1, în care 0,5 mL de compoziție include oricare dintre următorii:

a) antigen D într-o cantitate de 10 Lf; antigen T într-o cantitate de 2 Lf; antigen wP într-o cantitate de 12 IOU; HBsAg într-o cantitate de 8 μ g; antigen Hib într-o cantitate de 8 μ g; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, tip 2 (tulpina MEF-1) într-o cantitate de 1,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); metilparaben într-o cantitate de 0,9 mg (m/v); sau

b) antigen D într-o cantitate de 20 Lf; antigen T într-o cantitate de 4 Lf; antigen wP într-o cantitate de 14 IOU; HBsAg într-o cantitate de 15 μ g; antigen Hib într-o cantitate de 10 μ g; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, tip 2 (tulpina MEF-1) într-o cantitate de 1,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); metilparaben într-o cantitate de 0,9 mg (m/v); sau

c) antigen D într-o cantitate de 25 Lf; antigen T într-o cantitate de 10 Lf; antigen wP într-o cantitate de 16 IOU; HBsAg într-o cantitate de 15 μ g; antigen Hib într-o cantitate de 13 μ g; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, tip 2 (tulpina MEF-1) într-o cantitate de 1,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); metilparaben într-o cantitate de 0,9 mg (m/v).

17. Compoziție imunogenică, conform revendicării 1, în care 0,5 mL de compoziție include oricare dintre următorii:

a) antigen D într-o cantitate de 10 Lf; antigen T într-o cantitate de 2 Lf; antigen wP într-o cantitate de 12 IOU; HBsAg într-o cantitate de 8 μ g; antigen Hib într-o cantitate de 8 μ g; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); propilparaben într-o cantitate de 0,1 mg (m/v); sau

b) antigen D într-o cantitate de 20 Lf; antigen T într-o cantitate de 4 Lf; antigen wP într-o cantitate de 14 IOU; HBsAg într-o cantitate de 15 μ g; antigen Hib într-o cantitate de 10 μ g; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); propilparaben într-o cantitate de 0,1 mg (m/v); sau

c) antigen D într-o cantitate de 25 Lf; antigen T într-o cantitate de 10 Lf; antigen wP într-o cantitate de 16 IOU; HBsAg într-o cantitate de 15 μ g; antigen Hib într-o cantitate de 13 μ g; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); propilparaben într-o cantitate de 0,1 mg (m/v).

18. Compoziție imunogenică, conform oricărei din revendicările precedente, în care 0,5 mL de compoziție include oricare dintre următorii:

a) antigen D într-o cantitate de 10 Lf; antigen T într-o cantitate de 2 Lf; antigen wP într-o cantitate de 12 IOU; HBsAg într-o cantitate de 8 μ g; antigen Hib într-o cantitate de 8 μ g; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, tip 2 (tulpina MEF-1) într-o cantitate de 1,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); propilparaben într-o cantitate de 0,1 mg (m/v); sau

b) antigen D într-o cantitate de 20 Lf; antigen T într-o cantitate de 4 Lf; antigen wP într-o cantitate de 14 IOU; HBsAg într-o cantitate de 15 μ g; antigen Hib într-o cantitate de 10 μ g; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, tip 2 (tulpina MEF-1) într-o cantitate de 1,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); propilparaben într-o cantitate de 0,1 mg (m/v); sau

c) antigen D într-o cantitate de 25 Lf; antigen T într-o cantitate de 10 Lf; antigen wP într-o cantitate de 16 IOU; HBsAg într-o cantitate de 15 µg; antigen Hib într-o cantitate de 13 µg; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, tip 2 (tulpina MEF-1) într-o cantitate de 1,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); propilparaben într-o cantitate de 0,1 mg (m/v).

19. Compoziție imunogenică, conform revendicării 1, în care 0,5 mL de compoziție include oricare dintre următorii:

a) antigen D într-o cantitate de 10 Lf; antigen T într-o cantitate de 2 Lf; antigen wP într-o cantitate de 12 IOU; HBsAg într-o cantitate de 8 µg; antigen Hib într-o cantitate de 8 µg; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); metilparaben într-o cantitate de 0,9 mg (m/v); propilparaben într-o cantitate de 0,1 mg (m/v); sau

b) antigen D într-o cantitate de 20 Lf; antigen T într-o cantitate de 4 Lf; antigen wP într-o cantitate de 14 IOU; HBsAg într-o cantitate de 15 µg; antigen Hib într-o cantitate de 10 µg; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); metilparaben într-o cantitate de 0,9 mg (m/v); propilparaben într-o cantitate de 0,1 mg (m/v); sau

c) antigen D într-o cantitate de 25 Lf; antigen T într-o cantitate de 10 Lf; antigen wP într-o cantitate de 16 IOU; HBsAg într-o cantitate de 15 µg; antigen Hib într-o cantitate de 13 µg; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); metilparaben într-o cantitate de 0,9 mg (m/v); propilparaben într-o cantitate de 0,1 mg (m/v).

20. Compoziție imunogenică, conform revendicării 1, în care 0,5 mL de compoziție include oricare dintre următorii:

a) antigen D într-o cantitate de 10 Lf; antigen T într-o cantitate de 2 Lf; antigen wP într-o cantitate de 12 IOU; HBsAg într-o cantitate de 8 µg; antigen Hib într-o cantitate de 8 µg; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, tip 2 (tulpina MEF-1) într-o cantitate de 1,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); metilparaben într-o cantitate de 0,9 mg (m/v); propilparaben într-o cantitate de 0,1 mg (m/v); sau

b) antigen D într-o cantitate de 20 Lf; antigen T într-o cantitate de 4 Lf; antigen wP într-o cantitate de 14 IOU; HBsAg într-o cantitate de 15 µg; antigen Hib într-o cantitate de 10 µg; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, tip 2 (tulpina MEF-1) într-o cantitate de 1,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); metilparaben într-o cantitate de 0,9 mg (m/v); propilparaben într-o cantitate de 0,1 mg (m/v); sau

c) antigen D într-o cantitate de 25 Lf; antigen T într-o cantitate de 10 Lf; antigen wP într-o cantitate de 16 IOU; HBsAg într-o cantitate de 15 µg; antigen Hib într-o cantitate de 13 µg; antigen IPV, tip 1 (tulpina Mahoney) într-o cantitate de 7,5 DU, tip 2 (tulpina MEF-1) într-o cantitate de 1,5 DU, și tip 3 (tulpina Saukett) într-o cantitate de 6 DU, respectiv; conținutul total de aluminiu (Al^{3+}) nu mai mult de 0,55 mg; 2-fenoxietanol într-o cantitate de 2,5 mg (v/v); metilparaben într-o cantitate de 0,9 mg (m/v); propilparaben într-o cantitate de 0,1 mg (m/v).

21. Procedeu de fabricare a compoziției imunogenice cu doze multiple complet lichidă în care 0,5 mL de compoziție include:

(i) un toxoid difteric (D), într-o cantitate de la 10 Lf până la 25 Lf, adsorbit pe sare de aluminiu, având un procent de adsorbție de cel puțin 50%;

(ii) un toxoid tetanos (T), într-o cantitate de la 2 Lf până la 10 Lf, adsorbit pe sare de aluminiu, având un procent de adsorbție de cel puțin 40%;

(iii) celule întregi inactivate de pertussis (wP), ce conține *Bordetella pertussis* inactivat, tulpinile 134, 509, 25525 și 6225 într-un raport de 1:1:0,25:0,25, într-o cantitate de la 12 IOU până la 16 IOU;

(iv) un antigen de suprafață al virusului hepatitei B (HBsAg), într-o cantitate de la 7 µg până la 15 µg, adsorbit pe sare de aluminiu, având un procent de adsorbție de cel puțin 50%;

(v) un antigen *Haemophilus influenzae* de tip b (Hib), într-o cantitate de la 7 µg până la 13 µg;

(vi) un antigen al virusului de poliomielită inactivat (IPV), ce conține IPV de tip 1 într-o cantitate de 1...25 DU, IPV de tip 2 într-o cantitate de 1...10 DU și IPV de tip 3 într-o cantitate de 1...20 DU;

(vii) conținut total al adjuvantului de aluminiu într-un interval de la 0,1 mg până la 0,6 mg; și

(viii) conservant ca 2-fenoxietanol într-o cantitate de 1...6 mg (v/v); metilparaben într-o cantitate de 0,1...1,5 mg (m/v) și propilparaben într-o cantitate de 0,05...0,2 mg (m/v); sau

2-fenoxietanol într-o cantitate de 1...6 mg (v/v) și metilparaben într-o cantitate de 0,1...1,5 mg (m/v); sau

2-fenoxietanol într-o cantitate de 1...6 mg (v/v) și propilparaben într-o cantitate de 0,05...0,2 mg (m/v);

în procedeul, care include următoarele etape:

a) adăugarea serului fiziologic normal de 80% din total într-un vas de amestecare/container;

b) adăugarea componentului I care include toxoid difteric într-un vas de amestecare/container;

c) adăugarea componentului II care include toxoid tetanos la componentul I din etapa (b) cu agitare la temperatura camerei;

d) adăugarea componentului III care include antigenul cu celule întregi inactivate de pertussis la amestecul obținut la etapa (c) cu agitare la temperatura camerei;

e) adăugarea componentului IV care include antigenul de suprafață a hepatitei B la amestecul obținut la etapa (d) la temperatura camerei;

f) adăugarea componentului V care include antigenul Hib la amestecul obținut la etapa (e) la 6...16°C;

g) adăugarea componentului VI care include antigenul IPV la amestecul obținut la etapa (f) la 6...16°C;

h) adăugarea unei combinații de conservanți la amestecul obținut la etapa (g) la 6...16°C selectată din:

2-fenoxietanol într-o cantitate de la 1 până la 6 mg per 0,5 mL (v/v) și metilparaben într-o cantitate de 0,1...1,5 mg per 0,5 mL (m/v); sau

2-fenoxietanol într-o cantitate de la 1 până la 6 mg per 0,5 mL (v/v) și propilparaben într-o cantitate de 0,05...0,2 mg per 0,5 mL (m/v); sau

2-fenoxietanol într-o cantitate de la 1 până la 6 mg per 0,5 mL (v/v), metilparaben într-o cantitate de 0,1...1,5 mg per 0,5 mL (m/v) și propilparaben într-o cantitate de 0,05... 0,2 mg per 0,5 mL (m/v);

i) ajustarea pH-ului amestecului obținut la etapa (h) de la 6,0 până la 7,0 cu hidroxid de sodiu/carbonat de sodiu; și

j) adăugarea serului fiziologic normal, cele 20% rămase pentru a forma volumul la agitare.

22. Procedeul, conform revendicării 21, în care prepararea componentului I include următoarele etape:

a) transferul fosfatului de aluminiu în container/vas;

b) adăugarea toxoidului difteric;

c) ajustarea pH-ului de la 4,5 până la 5,5 cu acid acetic/hidroxid de sodiu;

d) stabilizarea;

e) ajustarea pH-ului de la 5,5 până la 6,5 cu hidroxid de sodiu/carbonat de sodiu; și

f) stabilizarea cu tampon histidinic.

23. Procedeul, conform revendicării 21, în care prepararea componentului II include următoarele etape:

a) transferul fosfatului de aluminiu în container/vas;

b) adăugarea toxoidului tetanos;

c) ajustarea pH-ului de la 4,5 până la 5,5 cu acid acetic/hidroxid de sodiu;

d) stabilizarea;

e) ajustarea pH-ului de la 5,5 până la 6,5 cu hidroxid de sodiu/carbonat de sodiu; și

f) stabilizarea cu tampon histidinic.

24. Procedeul, conform revendicării 21, în care prepararea componentului III include următoarele etape:

a) inactivarea tulpinii *Bordetella pertussis* 134 la 56°C, pentru 10...15 minute în prezență de formaldehidă;

b) inactivarea tulpinii *Bordetella pertussis* 509 la 56°C pentru 10...15 minute în prezență de formaldehidă;

c) inactivarea tulpinilor *Bordetella pertussis* 25525 și 6229 la 56°C pentru 10...15 minute în prezență de formaldehidă;

d) inactivarea tulpinii *Bordetella pertussis* 6229 la 56°C pentru 10...15 minute în prezență de formaldehidă;

e) amestecarea ulterioară a tulpinilor de *Bordetella pertussis* 134, 509, 25525 și 6229 inactivate într-un raport de 1:1:0,25:0,25; și

f) adsorbția opțională pe adjuvant bazat pe aluminiu;

în care procesul este lipsit de Thiomersal, antigenul pertussis cu celule întregi inactivate rămâne neaglomerat și omogen, conducând la reactogenitate redusă și dând o potență mai bună pentru o durată mai lungă.

25. Procedeu, conform revendicării 21, în care prepararea componentului IV include următoarele etape:

- a) transferul fosfatului de aluminiu în container/vas;
- b) adăugarea antigenului de suprafață a hepatitei B;
- c) ajustarea pH-ului de la 4,5 până la 5,5 cu acid acetic/hidroxid de sodiu;
- d) stabilizarea;
- e) ajustarea pH-ului de la 5,8 până la 6,8 cu hidroxid de sodiu/carbonat de sodiu; și
- f) stabilizarea.

26. Procedeu, conform revendicării 21, în care prepararea componentului V include următoarele etape:

- a) fermentarea *Haemophilus influenzae* de tip b;
 - b) inactivarea la temperatura de 37°C pentru 2 ore în prezență de formaldehidă de 0,1%;
 - c) purificarea polizaharidei poliribosilribitol fosfat (PRP) Hib;
 - d) conjugarea produsului purificat la etapa (c) la toxoidul tetanos (TT) prin chimia de conjugare prin cianilare, folosind bromura de cianogen în prezență linkerului dihidrazida acidului adipic (ADH);
 - e) purificarea conjugatului din etapa (d); și
 - f) filtrarea conjugatului purificat preferabil prin filtru de 0,22 μm;
- în care procentul de PRP liber nu este mai mare de 5% în volumul total de conjugat purificat Hib.

Document semnat
digital

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2021 0028 (32) Data de prioritate recunoscută: 2018.10.12
 (22) Data depozit: 2019.10.04 Raport de documentare internațională: da
 ((85) Data deschiderii fazei naționale: 2021.05.06
 (86) Cerere internațională: PCT/IN2019/050737, 2019.10.04
 (87) Publicarea cererii internaționale: WO 2020/075184 A1, 2020.04.16
 (71) Solicitant: **SERUM INSTITUTE OF INDIA PRIVATE LTD, IN**
 (54) **Titlu: Compoziție de vaccin combinat, care conține o doză redusă de poliovirus inactivat, și procedeul de preparare a acesteia**

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** *A61K 39/00* (2015.01) *A61K 39/29* (2015.01)
A61K 39/02 (2015.01) *A61P 31/00* (2013.01)
A61K 39/13 (2015.01)

III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)

MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stânga/dreapta): **Int.Cl:** *A61K 39/00* (2015.01) *A61K 39/29* (2015.01)
A61K 39/02 (2015.01) *A61P 31/00* (2013.01)
A61K 39/13 (2015.01)

Vaccin, toxoid difteric, toxoid tetanus, pertussis cu celule întregi inactivat, (wP), pertussis acelular, (aP), virusului hepatitei B, (HBsAg), *Haemophilus influenzae* de tip b, (Hib), virusului de poliomielita inactivat, (IPV), 2-Phenoxdarhanol

"Worldwide" (Espacenet), PatSearch: **Int.Cl:** *A61K 39/00* (2015.01) *A61K 39/29* (2015.01)
A61K 39/02 (2015.01) *A61P 31/00* (2013.01)
A61K 39/13 (2015.01)

Vaccine, diphtheria toxoid, tetanus toxoid, inactivated whole cell pertussis, (wP), acelular pertussis, (aP), hepatitis B virus, (HBsAg), *Haemophilus influenzae* type b, (Hib), inactivated poliomyelitis virus, (IPV), 2-Phenoxdarhanol

EA, CIS (Eapatis): **Int.Cl:** *A61K 39/00* (2015.01) *A61K 39/29* (2015.01)
A61K 39/02 (2015.01) *A61P 31/00* (2013.01)
A61K 39/13 (2015.01)

Вакцина, дифтерийный анатоксин, столбнячный анатоксин, инактивированный цельноклеточный коклюш (wP), бесклеточный коклюш (aP), вирус гепатита В, (HBsAg), *Haemophilus influenzae* типа b, (Hib), инактивированный вирус полиомиелита, (IPV), 2-феноксдаранол

SU (certificate de autor): **Int.Cl:** *A61K 39/00* (2015.01) *A61K 39/29* (2015.01)
A61K 39/02 (2015.01) *A61P 31/00* (2013.01)
A61K 39/13 (2015.01)

Вакцина, дифтерийный анатоксин, столбнячный анатоксин, инактивированный цельноклеточный коклюш (wP), бесклеточный коклюш (aP), вирус гепатита В, (HBsAg), *Haemophilus influenzae* типа b, (Hib), инактивированный вирус полиомиелита, (IPV), 2-феноксдаранол

Vaccine, diphtheria toxoid, tetanus toxoid, inactivated whole cell pertussis, (wP), acellular pertussis, (aP), hepatitis B virus, (HBsAg), *Haemophilus influenzae* type b, (Hib), inactivated poliomyelitis virus, (IPV)), 2-Phenoxdarhanol

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

PabMed- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=vaccines>
 Vaccine, diphtheria toxoid, tetanus toxoid, inactivated whole cell pertussis, (wP), acellular pertussis, (aP), hepatitis B virus, (HBsAg), *Haemophilus influenzae* type b, (Hib), inactivated poliomyelitis virus, (IPV)), 2-Phenoxdarhanol

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
X	WO 2017/048038 A1 2017.03.23	1, 4-7, 10, 18, 21
Y	WO 2017/048038 A1 2017.03.23	2, 3, 8, 9, 11-17, 19, 23-61
Y	WO 2010/046934 A1 2010.04.29	1-61
Y	WO 2012/093406 A2 2012.07.12	1-61
X	Maria C. Nunes et al. Review of a new fully liquid, hexavalent vaccine: hexaxim. Expert opinion on biological therapy, vol. 13, no 4, 2013.02.27, p. 575-593, XP055659272, ASHLEY, London; GB, ISSN: 1471-2598, DOI: 10.1517/14712598.2003.774368	22
Y	US 6790445 B1 2004.09.14	1-61
Y	US 2004/258700 A1 2004.12.23	1-61
Y	Beickley Elizabeth B. et al. Maximising the impact of inactivated polio vaccines. Lancet Infectious Diseases, Elsevier LTD, US, vol. 17, no 7, 2017.04.25, p. 680-681, XP085118906, ISSN:1473-3099, DOI: 10.1016/S1473-3099 (17) 30236-0	1-61
Y, P	WO 2019/016654 A1 2019.01.24	1-61

A	Kutub Mahmood et al. Hexavalent IPV-based combination vaccines for public-sector markets of low-resource countries. <i>Human Vaccines and Immunotherapeutics</i> , vol. 9, no 9, 2013.09.19, p. 1894-1902, XP055512954, US, ISSN: 2164-5515, DOI: 10.4161/hv.25407	1-61
A, D	EP 1028750 B1 2006.02.01	1-61
A, D	Kurosky, et. al. Effects of Combination Vaccines on hepatitis B Vaccine Compliance in children in the United States; <i>The Pediatric Infectious Disease Journal</i> . 2017, vol. 36(7), e 189-e196	1-61
A, D	WO 99/48525 A1 1999.11.11	1-61
A, D	WO 93/24148 A11993.12.09	1-61
A, D	WO 9700697 A1 1997.01.09	1-61
A, D	WO 0030678 A1 2000.06.02	1-61
A, D	WO 2008028956 A1 2008.03.13	1-61
A, D	WO 2005089794 A2 2005.09.29	1-61
A, D	US 6013264 A 2000.01.11	1-61
A, D	WO 2010046934 A1 2010.04.29	1-61
A, D	WO 2008020322 A2 2008.02.21	1-61
A, D, C	WO 2012093406 A2 2012.07.12	1-61

*** categoriile speciale ale documentelor citate:**

A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată

documentul este luat în considerație de unul singur	
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri
Data finalizării documentării, 2022.03.16	
Examinator, GROSU Petru	