

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045248**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.11.07

(51) Int. Cl. **A61K 39/00** (2006.01)

(21) Номер заявки
202190318

(22) Дата подачи заявки
2019.07.19

(54) **СОСТАВЫ ВАКЦИН, СОДЕРЖАЩИЕ СИСТЕМУ КОНСЕРВАНТОВ**

(31) **201841027285**

(32) **2018.07.21**

(33) **IN**

(43) **2021.04.29**

(86) **PCT/IB2019/056202**

(87) **WO 2020/021416 2020.01.30**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
БАЙОЛОДЖИКАЛ И ЛИМИТЕД (IN)

(72) Изобретатель:
**Сангаредди Веерапанду, Бурки
Раджендар, Срираман Раджан, Матур
Рамеш Венкат, Мантена Нарендер
Дев, Датла Махима (IN)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) US-B2-9095567

Skinner et al.: "Pre-clinical evaluation of a 15-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV15-CRM197) in an infant-rhesus monkey immunogenicity model," Vaccine. 2011 Nov 8; 29 (48):8870-6, abstract

(57) Изобретение относится к составам вакцин, содержащим системы консервантов. Более конкретно, настоящее изобретение относится к системам консервантов для вакцин, которые не содержат тиомерсал, содержат 2-феноксиэтанол и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты.

B1

045248

045248

B1

Область техники

Настоящее изобретение относится к системе консервантов и их применению в составах вакцин. Более конкретно, настоящее изобретение относится к составам моно- или поливалентных вакцин, содержащим систему консервантов и не содержащим тиомерсала.

Уровень техники

Вакцина представляет собой биологический препарат, обеспечивающий активный приобретенный иммунитет к конкретному заболеванию. Вакцина обычно содержит агент, который напоминает болезнетворный микроорганизм и часто состоит из ослабленных или убитых форм этого микроба, его токсинов или по меньшей мере одного из его поверхностных белков, или по меньшей мере одного из его капсульных полисахаридов. Агент стимулирует иммунную систему организма на его распознавание в качестве угрозы, уничтожение этого агента, распознавание и уничтожение любых из этих микроорганизмов, с которыми он столкнется позже. Помимо наличия определенного уровня иммуногенности, активности и стабильности, состав вакцины должен быть свободен от микробной контаминации.

В случае составов вакцин в многодозовых упаковках для предотвращения их контаминации и для стабилизации композиции последующих доз после использования первой дозы требуются консерванты. Консервант должен быть таким, чтобы состав вакцины смог пройти тесты на эффективность или анти-микробные тесты.

В патенте США № 6790445 В1 раскрыта комбинация консервантов, которые соответствуют требованиям Фармакопеи США (USP), Британской фармакопеи (BP) и Европейской фармакопеи (EP) в отношении тестирования антимикробной активности, выбранных из группы, состоящей из: (1) 1,5% бензилового спирта; (2) 0,225% метилпарабена натрия, 0,025% пропилпарабена натрия и 0,9% бензилового спирта, и (3) 0,225% метилпарабена натрия, 0,025% пропилпарабена натрия и 0,375% 2-феноксэтанола.

В патенте США № 9095567 В2 описана поливалентная иммуногенная композиция, содержащая полисахарид-белковые конъюгаты, состоящие из пневмококковых капсульных полисахаридов серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F и 23F, каждый из которых конъюгирован с CRM₁₉₇, и дополнительно содержащая не менее 7 мг/мл 2-феноксэтанола (2-PE). В этом патенте раскрыто, что результаты теста на эффективность консерванта (PET) показали, что все протестированные консерванты соответствуют требованиям USP, но не критериям EP. 2-PE был единственным консервантом, рассматриваемым в качестве кандидата, который оказался безопасным при более высоких дозах.

В публикации патента США № 2004/0258700 А1 раскрыт состав вакцины, содержащий иммуноген, консервант, отличающийся тем, что консервант представляет собой комбинацию по меньшей мере двух эфиров парабена и 2-феноксэтанола.

В публикации патента США № 2013/0273098 А1 указано, что добавление 0,1% поверхностно-активного вещества полоксамера 188 (Poloxamer 188) (Pluronic® F-68) привело к тому, что перестали наблюдать видимые частицы тестируемых консервантов, таких как фенол, 2-феноксэтанола, м-крезол, бензиловый спирт или хлорбутанол.

В WO публикации № 2018/169303 А1 раскрыта композиция вакцины, содержащая: (i) конъюгат капсульного полисахарида с белком; (ii) 2-феноксэтанола (2-PE); и (iii) формальдегид (НСНО), и способ его получения.

Hilliard et.al (1964, Journal of Pharmaceutical Sciences 53 (8), 899-901) описывают добавление 0,375 об.% 2-феноксэтанола к вакцине против полиомиелита, что обеспечило получение стабильной смеси консервантов (стрептомицина, неомицина и 2-феноксэтанола), подавляющей рост как бактерий, так и грибов.

Stephen et. al. (1985, International Journal of Pharmaceutics, 25, 245-253) описывают антимикробные консерванты, принадлежащие к тем же химическим группам, которые, как полагают, при использовании в комбинации, обеспечивают просто аддитивные эффекты.

Консерванты обычно обеспечивают ограниченную защиту от вирусной контаминации. Бактерициды и фунгициды могут воздействовать, например, на различные целевые микробные клетки, например, клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану или цитоплазму. Часто бывает трудно установить точную мишень для определенного класса консервантов; мишень может и действительно меняется с концентрацией консерванта. Как следствие, консерванты часто затрагивают несколько различных клеточных механизмов микробов. Такая цитотоксичность также может затронуть клетки млекопитающих. Следовательно, уровни включения должны быть минимальными, обеспечивая при этом надлежащую консервацию. Регуляторные органы ожидают предоставления обоснований для включения консервантов, подтверждения эффективности, информации о безопасности, методах контроля и подробную информацию по маркировке готового продукта.

По сути, система консервантов обеспечивает защиту продукта от размножения микробов, но не ухудшает его характеристики. На практике это означает, что она должна проявлять широкий спектр антимикробной активности при низких уровнях включения; сохранять активность во время производства, хранения и использования продукта; не оказывать негативного влияния на качество или эффективность продукта, упаковки или системы доставки;

не оказывать отрицательного воздействия на безопасность пациента или переносимость продукта.

Фармакопейные тесты на антимикробную эффективность (АЕТ) или тесты на эффективность консервантов (РЕТ) включают контаминацию продукта определенным количеством колониеобразующих единиц (КОЕ) различных тестируемых микроорганизмов (бактерий, дрожжей и грибов), подсчет в нулевой момент времени и последующий мониторинг уровня гибели/выживаемости через определенные интервалы времени. В дополнение к тестированию антимикробной эффективности (АЕТ) нормативным требованием является мониторинг химической стабильности лекарственного препарата (в его окончательной упаковке) на протяжении предполагаемого срока хранения продукта.

Тимеросал (также известный как тиомерсал; мертиолат) представляет собой консервант, содержащий этилртуть, который с начала 1930-х гг. добавляют во многие многодозовые лекарственные формы, предназначенные для инъекций. Утверждается, что тиомерсал, содержащий ртуть, вызывает аутизм у детей, а также токсичен для окружающей среды. Перспективным является поиск консервантов, безопасных для вакцин, которые могли бы заменить тимеросал. Таким образом, существует потребность в составе вакцины, содержащем консерванты, которые являются безопасными, а также эффективными.

Хотя профиль безопасности 2-феноксизанола (2-РЕ) лучше, чем у ртутисодержащих консервантов (например, тиомерсала), он является более слабым антимикробным средством из указанных двух веществ, и в составе вакцины требуются более высокие концентрации этого вещества.

Таким образом, чтобы улучшить антисептическую эффективность 2-РЕ при низких уровнях концентрации в составах вакцин, авторы настоящего изобретения разработали систему консервантов низкой концентрации, содержащую 2-РЕ в комбинации с другими консервантами. Авторы изобретения обнаружили, что использование системы консервантов в составах вакцин является безопасным и эффективным с точки зрения предотвращения роста микробов/вирусов.

Задача изобретения

Задачей настоящего изобретения является разработка композиции консервантов, содержащая низкие концентрации 2-феноксизанола, предназначенной для применения в составах вакцин с целью предотвращения роста микробов/вирусов.

Другой задачей изобретения является предоставление стабильного состава вакцины в многодозовой упаковке, который содержит низкие концентрации 2-феноксизанола.

Сущность изобретения

Соответственно, настоящее изобретение относится к составу вакцины, содержащему систему консервантов, содержащую 2-феноксизанол в концентрации в диапазоне от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты.

Изобретение также относится к составу вакцины, содержащему иммуноген, систему консервантов, содержащую 2-феноксизанол в концентрации от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты, и один или более подходящих фармацевтически приемлемых эксципиентов.

Изобретение также относится к способу получения состава вакцины, содержащего систему консервантов, содержащую 2-феноксизанол в концентрации от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты.

Изобретение также относится к способу получения состава вакцины, содержащего систему консервантов, содержащую 2-феноксизанол в концентрации от 0,1 до 0,5% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из по меньшей мере 0,005% м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 представлен график титров сывороточных антител у кроликов;

на фиг. 2А и В показаны титры сывороточных антител у кроликов, иммунизированных препаратом без консерванта (пример 2);

на фиг. 3А и В показаны титры сывороточных антител у кроликов, иммунизированных препаратом, содержащим систему консервантов (пример 3).

Определения

Представленные в настоящем описании варианты осуществления будут более понятны со ссылкой на приведенное ниже подробное описание, примеры и чертежи. Элементы, устройства и способы, раскрытые в настоящем описании, являются просто иллюстрацией принципов настоящего изобретения и не ограничиваются конкретными вариантами осуществления, представленными в подробном описании, примерах и чертежах. Специалистам в данной области техники будут очевидны многочисленные модификации и усовершенствования, которые могут быть сделаны без отклонения от сущности и объема изобретения.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют то же значение, в котором их обычно понимает специалист в той области, к которой относятся указанные способы. Хотя на практике или при тестировании вариантов осуществления настоящего изо-

бретения также могут использоваться любые комбинации, композиции или способы, аналогичные или эквивалентные раскрытым в настоящем описании, ниже описаны типичные иллюстративные способы и композиции.

Понятно, что определенные признаки способов, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов осуществления, также могут быть представлены в комбинации в одном варианте осуществления. И наоборот, различные признаки способов и композиций, которые для краткости описаны в контексте одного варианта осуществления, также могут быть представлены отдельно или в любой подходящей субкомбинации. Следует отметить, что использование в настоящем описании и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включает множественное число, если из контекста в явном виде не следует иное. Кроме того, следует отметить, что формула изобретения может быть составлена так, чтобы она предусматривала исключение любого необязательного элемента. По существу, это утверждение следует рассматривать в качестве априорной основы для использования такой исключающей терминологии, как "исключительно", "только" и т.п. применительно к перечислению элементов в формуле изобретения или использованию "отрицательного" признака. Термин "по меньшей мере один" означает один и более одного.

После прочтения настоящего описания специалистам в данной области техники станет очевидно, что каждый из отдельных вариантов осуществления, описанных и проиллюстрированных в настоящем описании, имеет дискретные компоненты и признаки, которые могут быть легко отделены от признаков любых других вариантов осуществления или объединены с ними без отклонения от объема или сущности способов по настоящему изобретению. Любой раскрытый способ может быть реализован в порядке перечисленных действий или в любом другом порядке, который логически возможен.

Используемые в настоящем описании термины "система консервантов" или "композиция консервантов" являются взаимозаменяемыми и относятся к смеси или композиции, которую добавляют к композиции или составу вакцины для предотвращения разложения вследствие химического изменения или микробной/вирусной контаминации. В контексте изобретения система консервантов относится к композиции, содержащей 2-феноксэтанол и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты.

Термин "иммуноген или антиген" относится к веществу, которое стимулирует выработку антитела или вызывает гуморальный и/или клеточный иммунный ответ, приводящий к формированию иммунитета у хозяина по отношению к патогену.

Используемый в настоящем описании термин "моновалентная вакцина" относится к вакцине, имеющей один основной антигенный компонент.

Используемый в настоящем описании термин "поливалентная вакцина" относится к вакцине, содержащей более одного антигенного компонента. Термин включает комбинированную вакцину, двухвалентные вакцины, трехвалентные вакцины, четырехвалентные вакцины, пятивалентные вакцины, шестивалентные вакцины и т.п.

Используемый в настоящем описании термин "Vi:O2" относится к составу бивалентной вакцины против брюшного тифа и паратифа, содержащему антигены *Salmonella typhi* и *Salmonella paratyphi*.

Используемый в настоящем описании термин "MR" относится к составу бивалентной вакцины против кори и краснухи.

Используемый в настоящем описании термин "Td" относится к вакцине против дифтерии и столбняка [пониженное содержание адсорбированного антигена(ов)].

Используемый в настоящем описании термин "DTwP" относится к составу трехвалентной вакцины против дифтерии, столбняка и цельноклеточного коклюша.

Используемый в настоящем описании термин "Vi:O2-НерА" относится к составу трехвалентной вакцины против брюшного тифа, паратифа и гепатита А.

Используемый в настоящем описании термин "MMR" относится к составу трехвалентной вакцины против кори, эпидемического паротита и краснухи.

Используемый в настоящем описании термин "DTwP-Hib" относится к составу четырехвалентной вакцины против дифтерии, столбняка, цельноклеточного коклюша и гемофильной палочки (*Haemophilus influenzae*) типа b.

Используемый в настоящем описании термин "DTaP-Hib" относится к составу четырехвалентной вакцины против дифтерии, столбняка, бесклеточного коклюша и гемофильной палочки типа b.

Используемый в настоящем описании термин "DTwP-IPV" относится к составу четырехвалентной вакцины против дифтерии, столбняка, цельноклеточного коклюша и инактивированного вируса полиомиелита.

Используемый в настоящем описании термин "DTwP-НерВ" относится к составу четырехвалентной вакцины против дифтерии, столбняка, цельноклеточного коклюша и гепатита В.

Используемый в настоящем описании термин "ACW-135XY" относится к составу пятивалентной конъюгированной вакцины против менингококков группы А, С, W-135, X и Y.

Используемый в настоящем описании термин "DtwPHib-НерВ" относится к составу пятивалентной вакцины против дифтерии, столбняка, цельноклеточного коклюша, гемофильной палочки типа b и гепа-

тита В.

Используемый в настоящем описании термин "DtaPHib-НерВ" относится к составу пятивалентной вакцины против дифтерии, столбняка, бесклеточного коклюша, гемофильной палочки типа b и гепатита В.

Используемый в настоящем описании термин "DtwPHib-НерВ-IPV" относится к составу шестивалентной вакцины против дифтерии, столбняка, цельноклеточного коклюша, гемофильной палочки типа b, гепатита В и инактивированного вируса полиомиелита.

Используемый в настоящем описании термин "DtaPHib-НерВ-IPV" относится к составу шестивалентной вакцины против дифтерии, столбняка, бесклеточного коклюша, гемофильной палочки типа b, гепатита В и инактивированного вируса полиомиелита.

Используемый в настоящем описании термин "фармацевтически приемлемый носитель(и)" относится к одному или более необязательным компонентам, которые могут быть добавлены в состав вакцины для введения антигенов и/или вирусов, которые сами не индуцируют продукцию антител, вредных для индивидуума, получающего композицию, причем указанный один или более необязательных компонентов можно вводить, не вызывая чрезмерной токсичности. Термин включает одно или более вспомогательных веществ, адъювантов, разбавителей, буферов или поверхностно-активных веществ или их комбинацию. Под фармацевтически приемлемым или фармакологически приемлемым подразумевается материал, который не является нежелательным с биологической или иной точки зрения, т.е. материал может быть введен индивиду в составе или композиции, при этом он не вызывает каких-либо нежелательных биологических эффектов и не взаимодействует неблагоприятным образом с любым из компонентов состава, в котором содержится.

В данном контексте фраза "микробная или вирусная контаминация" относится к нежелательному росту микробов или вирусов в составе вакцины.

Подробное описание изобретения

В контексте настоящего описания вакцина или иммуноген по настоящему изобретению включает пневмококковый конъюгат, менингококковый конъюгат, тифозный конъюгат, паратифозный конъюгат, конъюгат Hib и поливалентную вакцину, содержащую один или более антигенов, выбранных из кори (М), эпидемического паротита (М), краснухи (R), вируса гепатита А (HAV), вируса гепатита С (HCV), дифтерии (D), столбняка (Т), цельноклеточного (wP) или бесклеточного коклюша (aP), полисахарида Hib, гепатита В (НерВ) и инактивированного вируса полиомиелита (IPV).

Моновалентные вакцины включают антигены, выбранные или выделенные из *Streptococcus pneumoniae* (пневмококкового капсульного полисахарида), *Neisseria meningitidis* (Men A, C, W-135 или Y), *Salmonella typhi* (Vi), *Salmonella paratyphi* (0:2), *Haemophilus influenzae* (Hib-PRP), *Corynebacterium Diptheriae* (дифтерийного анатоксина-DT), *Bordetella pertussis* (wP/aP), *Clostridium tetani* (столбнячного анатоксина), вируса гепатита А (HAV), вируса гепатита В (HBV), вируса гепатита С (HCV), инактивированного вируса японского энцефалита (Japanese Encephalitis), вируса бешенства и инактивированного вируса полиомиелита.

Поливалентная вакцина включает двухвалентную, трехвалентную, четырехвалентную, пятивалентную и шестивалентную вакцину, такую как DT (дифтерийный анатоксин), MR (вакцину против кори и краснухи), конъюгат Vi:O2 (*Salmonella typhi* и *Salmonella paratyphi*), Vi:O2-НерА (*Salmonella typhi*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhi paratyphi* и вакцину против гепатита А), MMR (вакцину против кори, паротита и краснухи), вакцину DTwP (вакцину против дифтерии, столбняка и цельноклеточного коклюша), ACW-135XY (конъюгированную вакцину против менингококков группы А, С, W-135, X и Y), DTwP-Hib (вакцину против дифтерии, столбняка, цельноклеточного коклюша и гемофильной палочки типа b), DTaP-Hib (вакцину против дифтерии, столбняка, бесклеточного коклюша и гемофильной палочки типа b), DTwP-НерВ (вакцину против дифтерии, столбняка, цельноклеточного коклюша и гепатита В), DTwPHib-НерВ (вакцину против дифтерии, столбняка, цельноклеточного коклюша, гемофильной палочки типа b и гепатита В), DTaPHib-НерВ (вакцину против дифтерии, столбняка, бесклеточного коклюша, гемофильной палочки типа b и гепатита В), DTwP-IPV (вакцину против дифтерии, столбняка, цельноклеточного коклюша и инактивированного вируса полиомиелита), DTwPHib-НерВ-IPV (вакцину против дифтерии, столбняка, цельноклеточного коклюша, гемофильной палочки типа b, гепатита В и инактивированного вируса полиомиелита), DTaPHib-НерВ-IPV (вакцину против дифтерии, столбняка, бесклеточного коклюша, гемофильной палочки типа b, гепатита В и инактивированного вируса полиомиелита).

Используемый в настоящем описании процент концентрации (%) представляет собой отношение массы к объему (мас./об.) или массы к массе (мас./мас.).

Настоящее изобретение относится к составу моно- и поливалентной комбинированной вакцины, включающему систему консервантов, содержащую 2-феноксиэтанол в концентрации в диапазоне от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения относится к составу вакцины на основе конъюгата пневмококкового капсульного полисахарида с белком, содержащему один или более конъюгатов пневмококкового полисахарида с белком и систему консервантов, содержащую 2-феноксиэтанол

в концентрации от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты, и один или более фармацевтически приемлемых носителей или вспомогательных веществ.

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу менингококковой конъюгированной вакцины, содержащему капсульные полисахаридные антигены *N. meningitidis* серогрупп А, С, W-135, X и Y, каждый из которых конъюгирован с белком-носителем, и систему консервантов, содержащую 2-феноксизтанол в концентрации в диапазоне от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты, и один или более фармацевтически приемлемых носителей или вспомогательных веществ.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу конъюгированной вакцины против брюшного тифа, содержащему полисахарид Vi, конъюгированный с белком-носителем, и систему консервантов, содержащую 2-феноксизтанол в концентрации в диапазоне от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты, и один или более фармацевтически приемлемых носителей или вспомогательных веществ.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу конъюгированной вакцины против паратифа, содержащему полисахарид 0:2, конъюгированный с белком-носителем, и систему консервантов, содержащую 2-феноксизтанол в концентрации от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты, и один или более фармацевтически приемлемых носителей или вспомогательных веществ.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу конъюгированной вакцины Hib, содержащему капсульный полисахарид полирибозилрибитолфосфат (PRP), конъюгированный с белком-носителем, и систему консервантов, содержащую 2-феноксизтанол в концентрации в диапазоне от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты, и один или более фармацевтически приемлемых носителей или вспомогательных веществ.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к составу вакцины на основе конъюгата пневмококкового капсульного полисахарида с белком, содержащему один или более конъюгатов пневмококкового полисахарида с белком и систему консервантов, содержащую 2-феноксизтанол в концентрации от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты, в концентрации от 0,005 до 0,3%, и один или более фармацевтически приемлемых носителей.

Белок-носитель по настоящему изобретению выбирают из группы, состоящей из CRM₁₉₇, PspA, PsaA, белка D, дифтерийного анатоксина (DT), столбнячного анатоксина (TT) и т.п. или их комбинации.

Пневмококковая конъюгированная вакцина по настоящему изобретению включает один или более капсульных полисахаридов серотипа *Streptococcus pneumoniae*, выбранного из серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 6D, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 15B, 15C, 16F, 17F, 18C, 19F, 19A, 20A, 20B, 22F, 23A, 23B, 23F, 24B, 24F, 31, 33F, 34, 35B, 35F, 38, 39 и 45, причем каждый полисахарид конъюгирован с белком-носителем, предпочтительно выбранным из PsaA, CRM₁₉₇, инактивированных бактериальных токсинов, таких как дифтерийный анатоксин (DT), столбнячный анатоксин (TT), коклюшный анатоксин, холерный анатоксин или белок D *Haemophilus influenzae* или их комбинации, и систему консервантов, содержащую 2-феноксизтанол в концентрации в диапазоне от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола, бензойной кислоты, и один или более фармацевтически приемлемых носителей.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к составу пневмококковой конъюгированной вакцины, содержащему пневмококковые капсульные полисахариды, причем каждый полисахарид выбирают из серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 6D, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 15B, 15C, 16F, 17F, 18C, 19F, 19A, 20A, 20B, 22F, 23A, 23B, 23F, 24B, 24F, 31, 33F, 34, 35B, 35F, 38, 39 и 45, конъюгированных с белком-носителем, и систему консервантов, содержащую 2-феноксизтанол в концентрации от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к составу пневмококковой конъюгированной вакцины, содержащему пневмококковые капсульные полисахариды, причем каждый полисахарид выбирают из серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 15B, 15C, 16F, 17F, 18C, 19F, 19A, 20A, 20B, 22F, 23A, 23B, 23F, 24B, 24F, 31, 33F, 34, 35B, 35F, 38, 39 и 45, конъюгированных с белком-носителем, и систему консервантов, содержащую 2-феноксизтанол в концентрации от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из 0,005-0,3% м-крезола, 0,01%-1% бензилового спирта, 0,01%-1% бензойной кислоты из расчета на массу состава вакцины.

Пневмококковая вакцина на основе конъюгата капсульного полисахарида с белком по настоящему

изобретению представляет собой поливалентную иммуногенную композицию, такую как 10-валентная, 13-валентная, 14-валентная, 15-валентная, 16-валентная, 17-валентная, 18-валентная, 19-валентная, 20-валентная, 22-валентная, 23-валентная, 24-валентная, 25-валентная или 26-валентная композиция пневмококковой вакцины.

В одном из вариантов осуществления вакцина на основе конъюгата пневмококкового капсульного полисахарида с белком по настоящему изобретению представляет собой 14-валентную иммуногенную композицию, содержащую капсульные полисахариды серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F и 33F.

В другом варианте осуществления вакцина на основе конъюгата пневмококкового капсульного полисахарида с белком по настоящему изобретению представляет собой 20-валентную иммуногенную композицию, содержащую капсульные полисахариды серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C/6D, 7F, 9V, 11A, 12F, 14, 15A, 18C, 19A, 19F, 22F, 23A, 23F и 35B.

В другом варианте осуществления вакцина на основе конъюгата пневмококкового капсульного полисахарида с белком по настоящему изобретению представляет собой 20-валентную иммуногенную композицию, содержащую капсульные полисахариды серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C/6D, 7F, 9V, 14, 15A, 15C, 18C, 19A, 19F, 23 A, 23B, 23F, 24F и 35B.

В другом варианте осуществления вакцина на основе конъюгата пневмококкового капсульного полисахарида с белком по настоящему изобретению представляет собой 24-валентную иммуногенную композицию, содержащую капсульные полисахариды серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 18C, 19A, 19F, 22F, 23A, 23B, 23F, 24F, 33F и 35B.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к составу пневмококковой конъюгированной вакцины, содержащему пневмококковые капсульные полисахариды конъюгированные с белком-носителем, где каждый полисахарид выбирают из серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F и 33F, и систему консервантов, содержащую 2-феноксиэтанол в концентрации от 0,1 до 0,6% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из 0,005-0,3% м-крезола, 0,01%-1% бензилового спирта, 0,01%-1% бензойной кислоты из расчета на массу вакцинного состава.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу пневмококковой конъюгированной вакцины, содержащему пневмококковые капсульные полисахариды конъюгированные с белком-носителем, где каждый полисахарид выбирают из серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F и 33F, и систему консервантов, содержащую 2-феноксиэтанол в концентрации от 0,1 до 0,5% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из 0,005-0,3% м-крезола, 0,01%-1% бензилового спирта, 0,01%-1% бензойной кислоты из расчета на массу вакцинного состава.

Белок-носитель по настоящему изобретению предпочтительно представляет собой белок, который является нетоксичным и неактогенным и доступным в достаточном количестве, который выбирают из PsaA, CRM₁₉₇, инактивированных бактериальных токсинов, таких как дифтерийный анатоксин (DT), столбнячный анатоксин (TT), коклюшный анатоксин, холерный анатоксин, экзотоксин A *Pseudomonas aeruginosa*, белков наружной мембраны бактерий, таких как комплекс C белков наружной мембраны (ОМРС), поринов, трансферрин-связывающих белков, пневмолизина, PspA, пептидазы C5a из стрептококков группы A или группы B, или белка D *Haemophilus influenzae*, овальбумина, гемоцианина лимфы улитки (KLH), бычьего сывороточного альбумина (BSA) и очищенного производного белка туберкулина (PPD) и их комбинации. Например, некоторые полисахариды конъюгированы с CRM₁₉₇ в качестве белка-носителя, и некоторые полисахариды конъюгированы с PsaA, или DT, или TT и т.п.

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу вакцины на основе полисахарид-белкового конъюгата в многодозовой упаковке, включающему систему консервантов, содержащую 2-феноксиэтанол в концентрации от 0,1 до 0,5% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты, и фармацевтически приемлемый носитель и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ/адъювантов.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу конъюгированной вакцины, содержащему систему консервантов, содержащую 2-феноксиэтанол в концентрации в диапазоне от 0,1 до 0,6%, и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из 0,005-0,3% м-крезола, 0,01%-1% бензилового спирта, 0,01%-1% бензойной кислоты из расчета на массу состава вакцины, и фармацевтически приемлемый носитель и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ/адъювантов.

Композиция по настоящему изобретению может быть получена обычным способом. В частности, она может быть получена в составе с фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или вспомогательным веществом, например водой, буферным физиологическим раствором, глицерином, пропиленгликолем и раствором декстрозы. Кроме того, композиция может содержать буфер, такой как фосфат натрия, фосфат калия, сукцинат натрия, гистидин и т.п.; или стабилизатор, полисорбат, MPLA (монофосфорилилипид A) и т.п.; адъювант, такой как соединение алюминия, например гидроксид алюми-

ния, фосфат алюминия или гидроксифосфат алюминия, и эксципиент для лиофилизации. Как правило, эти ингредиенты/носители могут быть выбраны в зависимости от режима и пути введения и на основе стандартной фармацевтической практики.

Композицию по настоящему изобретению поставляют в многодозовом флаконе.

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу консервации вакцинного состава, который включает смешивание раствора вакцины и одного или более эксципиентов, таких как адьюванты, разбавители, буферы или поверхностно-активные вещества, с системой консервантов, содержащей 2-феноксиэтанол в концентрации в диапазоне от 0,1 до 0,5% и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты, с образованием смеси раствора вакцины и консерванта.

В предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу вакцины, содержащему систему консервантов, содержащую 2-феноксиэтанол в концентрации в диапазоне от 0,1 до 0,5%, и по меньшей мере один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из 0,005-0,3% м-крезола, 0,01-1% бензилового спирта, 0,01-1% бензойной кислоты, и фармацевтически приемлемый носитель и один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов/адьювантов. Фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества или адьюванты могут быть выбраны из группы адьювантов, таких как гидроксид алюминия, фосфат алюминия, поверхностно-активных веществ, таких как полисорбат 20, полисорбат 80, поллоксамеров, носителей, растворителей или соразтворителей, таких как соевые масла, ПЭГ, стабилизаторов, таких как ЭДТА, и может включать антиоксиданты, такие как полифенолы, токоферил полиэтиленгликоль сукцинат (TPGS). Значение pH вакцинного состава по настоящему изобретению доводят до величины от 4,0 до 8,0.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу вакцины, содержащему от 0,3 до 0,4% 2-РЕ и от 0,1 до 0,3% м-крезола в качестве консерванта и один или более фармацевтически приемлемых носителей или эксципиентов.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу вакцины, содержащему от 0,1 до 0,4% 2-РЕ и от 0,01 до 0,05% м-крезола в качестве консерванта и один или более фармацевтически приемлемых носителей или эксципиентов.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу 14-валентной конъюгированной пневмококковой вакцины, содержащему:

а) капсульный полисахарид, выбранный из серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1,3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F и 33F, каждый из которых конъюгирован с белком-носителем, выбранным из CRM₁₉₇, пневмококкового поверхностного белка А (PspA), пневмококкового белка адгезина (PsaA) или их комбинации,

б) систему консервантов, содержащую от 0,1 до 0,4% 2-РЕ и от 0,005 до 0,3% м-крезола, и

с) один или более фармацевтически приемлемых носителей или эксципиентов.

В предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу 20-валентной конъюгированной пневмококковой вакцины, содержащему:

а) капсульный полисахарид, выбранный из серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1,3, 4, 5, 6A, 6B, 6C/6D, 7F, 9V, 11A, 12F, 14, 15A, 18C, 19A, 19F, 22F, 23A, 23F и 35B, каждый из которых конъюгирован с белком-носителем, выбранным из CRM₁₉₇, пневмококкового поверхностного белка А (PspA), пневмококкового белка адгезина (PsaA) или их комбинации,

б) систему консервантов, содержащую от 0,1% до 0,4% 2-РЕ и от 0,005% до 0,1% м-крезола, и

с) один или более фармацевтически приемлемых носителей или эксципиентов.

В предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу 24-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины, содержащему:

а) капсульный полисахарид, выбранный из серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1,3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 18C, 19A, 19F, 22F, 23A, 23B, 23F, 24F, 33F и 35B, каждый из которых конъюгирован с белком-носителем, выбранным из CRM₁₉₇, пневмококкового поверхностного белка А (PspA), пневмококкового белка адгезина (PsaA) или их комбинации,

б) систему консервантов, содержащую от 0,1 до 0,4% 2-РЕ и от 0,005 до 0,1% м-крезола, и

с) один или более фармацевтически приемлемых носителей или эксципиентов. Количество пневмококкового конъюгата в каждой дозе вакцины выбирают как количество, которое вызывает иммунозащитный ответ без значительных побочных эффектов. Такое количество может варьировать в зависимости от пневмококкового серотипа. Каждая 0,5 мл доза содержит от 2 до 4 мкг каждого полисахарида; примерно от 30 до 70 мкг белка-носителя CRM₁₉₇.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу конъюгированной вакцины, содержащему вакцину на основе полисахарид-белкового конъюгата, выбранного из группы, состоящей из пневмококкового конъюгата, менингококкового конъюгата, тифозного конъюгата, паратифозного конъюгата или конъюгата Hib, и систему консервантов, содержащую от 0,1 до 0,4% 2-РЕ и от 0,01 до 0,3% м-крезола, и один или более фармацевтически приемлемых носителей или эксципиентов.

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к составу пневмококковой

конъюгированной вакцины, содержащему пневмококковые капсульные полисахариды, конъюгированные с белком-носителем, причем каждый полисахарид выбирают из серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 15B, 15C, 16F, 17F, 18C, 19F, 19A, 20A, 20B, 22F, 23A, 23B, 23F, 24B, 24F, 31, 33F, 34, 35B, 35F, 38, 39 и 45, и систему консервантов, содержащую от 0,1 до 0,5% 2-феноксэтанола в концентрации в диапазоне от 0,01 до 0,3% м-крезола из расчета на массу состава вакцины.

Композиции по настоящему изобретению можно вводить нуждающемуся в этом субъекту обычными способами, применяемыми в области, относящейся к вакцинам. Например, композиции по настоящему изобретению можно вводить системно, например парентерально (например, подкожно, внутримышечно, внутривенно и/или внутривенно) или через слизистые оболочки (например, перорально и/или назально).

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение также относится к способам индукции иммунного ответа у нуждающегося в этом субъекта. Способы индукции иммунного ответа включают введение нуждающемуся в этом субъекту иммунологически эффективного количества вакцинной композиции, раскрытой в настоящем описании.

Согласно способам по настоящему изобретению субъект, которому вводят раскрытые в настоящем описании композиции, представляет собой человека, например младенца (в возрасте менее 1 года), ребенка младшего детского возраста (в возрасте от примерно 12 месяцев до примерно 24 месяцев), ребенка раннего возраста (от 2 до 5 лет), ребенка более старшего возраста (от 5 до 13 лет), подростка (от 13 до 18 лет), взрослого (примерно от 18 до 65 лет) или пожилого человека (старше 65 лет).

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к иммуногенной композиции пневмококковой конъюгированной вакцины, содержащей от 0,1 до 0,4% 2-РЕ и от 0,01 до 0,3% м-крезола и один или более фармацевтически приемлемых носителей, и один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов/адьювантов.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к иммуногенной композиции менингококковой конъюгированной вакцины, содержащей от 0,3 до 0,4% 2-РЕ и от 0,1 до 0,3% м-крезола и один или более фармацевтически приемлемых носителей, и один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов/адьювантов.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к иммуногенной композиции конъюгированной вакцины против брюшного тифа, содержащей от 0,3 до 0,4% 2-РЕ и от 0,1 до 0,3% м-крезола и один или более фармацевтически приемлемых носителей, и один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов/адьювантов.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к иммуногенной композиции вакцины против паратифа, содержащей от 0,3 до 0,4% 2-РЕ и от 0,1 до 0,3% м-крезола и один или более фармацевтически приемлемых носителей, и один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов/адьювантов.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к иммуногенной композиции конъюгированной вакцины Hib, содержащей от 0,3 до 0,4% 2-РЕ и от 0,1 до 0,3% м-крезола и один или более фармацевтически приемлемых носителей, и один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов/адьювантов.

Эффективность консервантов в лекарственных средствах обычно оценивают с помощью контрольных тестов. В таких тестах продукт искусственно контаминируют высокой концентрацией стандартных тестовых штаммов бактерий и грибов. Скорость и степень снижения жизнеспособности посевного материала в течение определенного периода формируют основу для принятия/отклонения эффективности консерванта.

Эффективность композиции консервантов на основе 2-феноксэтанола (2-РЕ) и м-крезола при самой низкой дозе, которая все еще была эффективной при тестировании, показала высокую микробицидную активность против грамположительных бактерий, грамотрицательных бактерий, дрожжей и грибов.

БИОBALL® (производитель BTF Pty Ltd.) представляет собой небольшой водорастворимый шарик, содержащий четко определенное количество микроорганизмов, обеспечивая беспрецедентную точность количественного контроля микробиологического качества продукта.

Композиции по изобретению могут быть приготовлены с помощью обычных методов, которые включают растворение и смешивание ингредиентов, если это необходимо, с получением требуемого конечного продукта.

Примеры

Приведенные ниже примеры предоставлены для иллюстрации изобретения и предназначены исключительно для целей иллюстрации и не должны быть истолкованы как ограничивающие объем изобретения.

Пример 1. Подробное описание исследования по выбору консервантов и изучению их эффективности

Цель исследования состояла в определении наименьшей концентрации консерванта, чувствитель-

ного к бактериям и грибам, которую можно использовать в составе вакцин, в частности пневмококковой конъюгированной вакцины (PCV). Для исследования были выбраны два типа консервантов с разной концентрацией. Тестируемые культуры получали в форме Bioball® (производства BTF Pty Ltd.), из которого получали аликвоты глицерина.

В этом исследовании изучали применение минимальной и эффективной дозы консерванта в поливалентной PCV. Содержание микроорганизмов и эффективность консервантов изучали в соответствии с Фармакопеей США (USP) "USP29, General Chapter 51". Количество микроорганизмов в тестируемых образцах с различной концентрацией консервантов вместе с лекарственным продуктом (составом вакцины) проверяли с 0 по 35 день.

Посевной материал с исходной плотностью клеток микроорганизмов от 1×10^5 до 1×10^7 , которые являются наиболее частыми контаминантами (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, дрожжевые грибы *Candida albicans*, *Escherichia coli* и *Aspergillus brasiliensis*), инокулировали по отдельности для оценки силы каждого консерванта.

В текущем исследовании инкубацию тестируемых образцов с тестируемыми организмами (табл. 1) осуществляли в инкубаторе LabTech™ в течение 35 дней.

Таблица 1. Подробная информация о тестируемом организме

№	Название организма	ID штамма
1	<i>Candida albicans</i>	NCPF3139
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCTC12924
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC10788
4	<i>Escherichia coli</i>	NCTC12923
5	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	NCPF2275

Определение инокулята

При добавлении известного количества популяций различных тестируемых организмов в тестируемые образцы тестируемые культуры сначала проверяли на жизнеспособность путем последовательного разбавления от 10^{-1} до 10^{-8} 1 мл содержимого криопробирки стерильным физиологическим раствором. Из последних 6 разведений 100 мкл суспензии высевали (методом Pourplate) на чашки с подходящей средой и инкубировали в оптимальных условиях. После периода инкубации за чашками наблюдали и подсчитывали количество колоний для определения КОЕ/мл каждого тестируемого организма.

Таблица 2. Подробная информация по инкубации

Название микроорганизма	Подходящая среда	Условия инкубации	
		Температура	Время (ч)
<i>Candida albicans</i>	Сабуро-декстрозный агар (TSA)	22,5±2,5°C	44-72
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Соево-казеиновый агар (SCDA)	32,5±2,5°C	18-24
<i>Staphylococcus aureus</i>			18-24
<i>Escherichia coli</i>			18-24
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Сабуро-декстрозный агар (SDA)	22,5±2,5°C	36-48

На основании результатов, полученных при определении посевного материала, рассчитывали конечный объем посевного материала, который должен быть добавлен в составы, для поддержания требуемой конечной концентрации в соответствии с фармакопейными требованиями.

Поскольку представляющий интерес продукт, для которого должна быть установлена эффективная доза противомикробного вещества, подпадает под категорию 1 в соответствии с Общей главой 51 USP29, объем используемой суспензии инокулята составляет от 0,5 до 1,0% от объема продукта.

Таблица 3. Подробная информация о добавляемом объеме посевного материала

Название организма	Объем тестируемого образца	Требуемый объем посевного материала	Приблизительная конечная концентрация клеток в каждом тестируемом образце
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5 мл	100 мкл	$1,9 \times 10^6$
<i>Staphylococcus aureus</i>	5 мл	100 мкл	$1,4 \times 10^6$
<i>Escherichia coli</i>	5 мл	100 мкл	6×10^7
<i>Candida albicans</i>	5 мл	100 мкл	2×10^6
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	5 мл	200 мкл	2×10^5

Приготовление образцов и добавление посевного материала

Первоначально составы готовили без лекарственного препарата для тестирования консерванта в широком диапазоне концентраций по отдельности и в комбинации. По результатам этих экспериментов создавали диапазон пониженных концентраций консерванта, используемого отдельно и в комбинации с лекарственным препаратом.

Концентрация тестируемых микроорганизмов, которые добавляли к продукту, была такой, чтобы конечная концентрация тестируемого препарата после инокуляции удовлетворяла всем фармакопейным требованиям. Эти данные приведены в табл. 4а и 4б.

Таблица 4а. Подробная информация о составе (без лекарственного препарата)

№	Композиция					
	2-феноксиэтанол		метакрезол		Содержание Al ⁺⁺⁺	Физиологический раствор (0,9% мас/об)
	(%)	мг/мл	(%)	мг/мл		
1	0,2	2	NA		1	q.s
2	0,4	4			1	q.s
3	0,6	6			1	q.s
4	NA		0,05	0,5	1	q.s
5			0,1	1	1	q.s
6			0,2	2	1	q.s
7			0,3	3	1	q.s
8	0,2	2	0,3	3	1	q.s
9	0,3	3	0,1	1	1	q.s
10	0,4	4	0,2	2	1	q.s
11	0,5	5	0,2	2	1	q.s
12	0,5	5	0,3	3	1	q.s
13	0,6	6	0,2	1	1	q.s
14	0,6	6	0,3	3	1	q.s
15	0,8	8	0,1	1	1	q.s

q.s. - по необходимости

Таблица 4б. Подробная информация о составе (с лекарственным препаратом)

№	Композиция					
	2-феноксиэтанол		Метакрезол		Содержание Al ⁺⁺⁺	Физиологический раствор (0,9% мас/об)
	процент	мг/мл	процент	мг/мл		
1	0,3	3	0,1	1	1	q.s
2	0,3	3	0,05	0,5	1	q.s
3	0,3	3	0,025	0,25	1	q.s
4	0,3	3	0,005	0,05	1	q.s
5	0,3	3	NA		1	q.s
6	NA		0,05	0,5	1	q.s
7	0,2	2	0,05	0,5	1	q.s
8	0	0	0	0	1	q.s

Далее, основываясь на результатах процесса определения инокулята, клетки с известной концентрацией инокулировали в составы с образцами лекарственного препарата. Образцы после инокуляции инкубировали при соответствующих температурах, собирали, и выполняли серийное разведение с соответствующими интервалами для определения количества жизнеспособных клеток, присутствующих в каждом тестируемом образце.

Эффективность консерванта, протестированная в отношении *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*

Составы, инокулированные *Staphylococcus aureus*, показали снижение более чем на 2 log по сравнению с исходным количеством клеток во всех тестируемых образцах, и на 35-й день во всех композициях рост отсутствовал. Объем используемого образца составлял 100 мкл.

Таблица 5. Результаты тестов в отношении *Staphylococcus aureus* (NCTC10788)

Консервант	День 0		День 7		День 28		День 35	
	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность
2-РЕ 3 мг+m-С 1 мг	196	1,9*10 ⁸	0	0	0	0	0	0
2-РЕ 3 мг+m-С 0,5 мг	84	8,4*10 ⁷	11	1,1*10 ⁷	0	0	0	0
2-РЕ 3 мг+m-С 0,25 мг	154	1,54*10 ⁸	0	0	0	0	0	0
2-РЕ 3 мг+m-С 0,05 мг	TNT С	NA	0	0	0	0	0	0
2-РЕ 3 мг	56	5,6*10 ⁷	1	1*10 ⁶	0	0	0	0
m-С 0,5 мг	TNT С	NA	9	9*10 ⁶	0	0	0	0
2-РЕ 2 мг+m-С 0,5 мг	112	1,12*10 ⁸	0	0	0	0	0	0
Плацебо	57	5,7*10 ⁷	0	0	0	0	0	0

2-РЕ=2-феноксиэтанол;

m-С=м-крезол

Составы, инокулированные *Escherichia coli*, показали снижение более чем на 2 log в образцах, содержащих 2-РЕ 3 мг+m-С 1 мг; 2-РЕ 3 мг+m-С 0,5 мг; 2-РЕ 3 мг+m-С 0,25 мг и 2-РЕ 2 мг+m-С 0,5 мг; и 2-РЕ 3 мг; m-С 0,5 мг и 2-РЕ 3 мг+m-С 0,05 мг; консерванты продемонстрировали логарифмическое снижение и небольшое количество на 35-й день.

Таблица 6. Результаты тестов в отношении *Escherichia coli* (NCTC12923)

Консервант	День 0		День 7		День 28		День 35	
	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность
2-РЕ 3 мг+m-С 1 мг	188	1,88*10 ⁸	0	0	0	0	0	0
2-РЕ 3 мг+m-С 0,5 мг	60	6,0*10 ⁷	1	1*10 ⁶	0	0	0	0
2-РЕ 3 мг+m-С 0,25 мг	37	3,7*10 ⁷	9	9*10 ⁶	0	0	0	0
2-РЕ 3 мг+m-С 0,05 мг	39	3,9*10 ⁷	28	2,8*10 ⁷	5	5*10 ⁶	0	0
2-РЕ 3 мг	56	5,6*10 ⁷	43	4,3*10 ⁷	26	2,6*10 ⁷	1	1*10 ⁵
m-С 0,5 мг	131	1,31*10 ⁸	40	4,0*10 ⁷	103	1,03*10 ⁸	1	1*10 ⁵
2-РЕ 2 мг+m-С 0,5 мг	49	4,9*10 ⁷	4	4*10 ⁶	0	0	0	0
Плацебо	TNT С	TNTC	5	5*10 ⁶	122	1,22*10 ⁸	15	1,5*10 ⁷

2-РЕ=2-феноксиэтанол;

m-С=м-крезол

Все композиции консервантов в отношении *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* соответствовали фармакопейным требованиям.

Эффективность консерванта, протестированная в отношении *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans*

Составы, инокулированные *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans*, показали снижение более чем на 2 log по сравнению с исходным количеством клеток. Роста *Pseudomonas aeruginosa* не наблюдали во всех композициях, за исключением композиции, не содержащей консерванта (плацебо). Начиная со 2-го дня, во всех композициях с консервантами рост не наблюдали.

Роста *Candida albicans* не наблюдали во всех композициях с 12-го дня. Начиная со 2-го дня, наблюдали уменьшение количества клеток.

Таблица 7. Результаты тестов в отношении *Pseudomonas aeruginosa* (NCTC12924)

Консервант	День 0		День 7		День 28		День 35	
	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность
2-PE 3 мг+m-С 1 мг	12	1,2*10 ⁷	0	0	0	0	0	0
2-PE 3 мг+m-С 0,5 мг	63	6,3*10 ⁷	0	0	0	0	0	0
2-PE 3 мг+m-С 0,25 мг	62	6,3*10 ⁷	0	0	0	0	0	0
2-PE 3 мг+m-С 0,05 мг								
2-PE 3 мг	65	6,5*10 ⁷	0	0	0	0	0	0
m-С 0,5 мг	242	1,42*10 ⁸	0	0	0	0	0	0
2-PE 2 мг+m-С 0,5 мг	31	3,1*10 ⁷	0	0	0	0	0	0
Плацебо	TNT С	NA	TNT С	NA	300	3*10 ⁸	300	3*10 ⁸

2-PE=2-феноксиэтанол;

m-С=м-крезол

Таблица 8. Результаты тестов в отношении *Candida albicans* (NCPF3139)

Консервант	День 0		День 7		День 28		День 35	
	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность
2-PE 3 мг+m-С 1 мг	3	3*10 ⁵	0	0	0	0	0	0
2-PE 3 мг+m-С 0,5 мг	7	7*10 ⁵	1	0	0	0	0	0
2-PE 3 мг+m-С 0,25 мг	7	7*10 ⁵	2	2*10 ⁵	0	0	0	0
2-PE 3 мг+m-С 0,05 мг	6	6*10 ⁵	0	0	0	0	0	0
2-PE 3 мг	4	4*10 ⁵	3	3*10 ⁵	0	0	0	0
m-С 0,5 мг	4	4*10 ⁵	0	0	0	0	0	0
2-PE 2 мг+m-С 0,5 мг	4	4*10 ⁵	1	1*10 ⁵	0	0	0	0
Плацебо	2	2*10 ⁵	1	1*10 ⁵	0	0	0	0

2-PE=2-феноксиэтанол;

m-С=м-крезол

Все композиции консервантов в отношении *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans* соответствовали фармакопейным требованиям.

Эффективность консерванта, протестированная в отношении *Aspergillus brasiliensis*

Во всех композициях консервантов рост *Aspergillus brasiliensis* не наблюдали начиная с 12-го дня, за исключением состава, не содержащего консервантов (плацебо). Начиная со 2-го дня, во всех композициях консервантов наблюдали снижение количества клеток.

Таблица 9. Результаты тестов в отношении *Aspergillus brasiliensis* (NCPF2275)

Консервант	День 0		День 7		День 28		День 35	
	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность	10 ⁵	Жизнеспособность
2-РЕ 3 мг+m- С 1 мг	25	2,5*10 ⁷	0	0	0	0	0	0
2-РЕ 3 мг+m- С 0,5 мг	16	1,6*10 ⁷	0	0	0	0	0	0
2-РЕ 3 мг+m- С 0,25 мг	86	8,6*10 ⁷	0	0	0	0	0	0
2-РЕ 3 мг+m- С 0,05 мг	10	1,0*10 ⁷	3	3*10 ⁶	0	0	0	0
2-РЕ 3 мг	18	1,8*10 ⁷	5	5*10 ⁶	0	0	0	0
m-С 0,5 мг	11	1,1*10 ⁷	5	5*10 ⁶	0	0	0	0
2-РЕ 2 мг+m- С 0,5 мг	38	3,8*10 ⁷	0	0	0	0	0	0
Плацебо	12	1,2*10 ⁷	6	6*10 ⁶	7	7*10 ⁶	5	5*10 ⁶

2-РЕ=2-феноксизтанол;

m-С=м-крезол

Все композиции консервантов в отношении *Aspergillus brasiliensis* соответствовали фармакопейным требованиям.

Исходя из полученных результатов очевидно, что состав, содержащий комбинацию консервантов на основе 0,05% (0,05 мг/мл) мета-крезола и 0,2% (2 мг/мл) 2-феноксизтанола, является эффективным в отношении предотвращения роста микробов в конечных составах.

Пример 2. Состав 14-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины (без консерванта)

Серотип конъюгата	Количество (мкг)/ доза (0,5 мл)
1	2,2
3	2,2
4	2,2
5	2,2
6В	4,4
7F	2,2
9V	2,2
14	2,2
18С	2,2
19А	2,2
19F	2,2
22F	2,2
23F	2,2
33F	2,2
Вспомогательные вещества	
Янтарная кислота	295 мкг
Элементарный алюминий в виде геля фосфата алюминия	0,5 мг
Полоксамер 188	1000 мкг
0,9% раствор хлорида натрия (мас/об)	qs

Пример 3. Состав 14-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины (с консервантом)

Серотип конъюгата	Количество (мкг)/ доза (0,5 мл)
1	2,2
3	2,2
4	2,2
5	2,2
6B	4,4
7F	2,2
9V	2,2
14	2,2
18C	2,2
19A	2,2
19F	2,2
22F	2,2
23F	2,2
33F	2,2
Вспомогательные вещества	
Янтарная кислота	295 мкг
Элементарный алюминий в виде геля фосфата алюминия	0,5 мг
Полоксамер 188	1000 мкг
2-феноксэтанол	3 мг
м-крезол	1 мг
0,9% раствор хлорида натрия (мас/об)	qs

Ниже приведены этапы процесса изготовления состава 14-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины.

Брали часть физиологического раствора с последующим добавлением основной массы пневмококкового моновалентного конъюгата (PnMBC). Смесь перемешивали в течение нескольких минут до достижения однородной массы, и затем медленно добавляли порцию, составляющую 10%, стерильного раствора полоксамера 188, и смесь снова перемешивали в течение примерно 5 мин до достижения однородной массы. Затем добавляли стерильный отфильтрованный исходный раствор янтарной кислоты, затем исходный раствор 2-феноксэтанол и исходный раствор метакрезола. Смесь перемешивали в течение нескольких мин и при непрерывном перемешивании добавляли порцию геля фосфата алюминия. После перемешивания в течение нескольких минут проверяли pH смеси и доводили его значение до $\sim 5,8 \pm 0,2$, используя 1 н. NaOH, затем смесь доводили оставшейся частью физиологического раствора до конечного объема. После этого продолжали перемешивание со скоростью 200-50 об/мин в течение 2 ч для адсорбции с получением конечной массы.

После отбора проб обе вакцины разливали отдельно в асептических условиях по флаконам внутри блока с ламинарным воздушным потоком, из флаконов отбирали образцы для тестирования, а оставшиеся флаконы хранили при температуре камеры 2-8°C.

Пример 4. Состав шестивалентной вакцины

Каждая 0,5 мл доза вакцины содержит	Количество/0,5 мл доза
Дифтерийный анатоксин (DT)	25 Lf (единиц силы токсина)
Столбнячный токсин (TT)	5 Lf
Цельноклеточная <i>Bordetella pertussis</i> (wP)	16 или 20 IOU (Международных единиц, соответствующих стандарту прозрачности)
Конъюгат полисахарида <i>Haemophilus influenzae</i> (гемофильной палочки) типа В (Hib-PRP) с TT	11 микрограмм
Поверхностный антиген вируса гепатита В (НерВ)	12,5 микрограмм
Инактивированный вирус полиомиелита (IPV)	
тип 1	20 DU
тип 2	4 DU
тип 3	16 DU
Содержание Al	0,3 мг
2-феноксизтанол (2-PE)	2 мг
м-крезол	1 мг

DU - Д-антигенных единиц

Ниже приведены этапы способа изготовления описанного выше шестивалентного состава:

- i) Антиген НерВ, дифтерийный анатоксин и столбнячный анатоксин добавляли в сосуд для смешивания, содержащий фосфат алюминия, и смесь перемешивали в течение 12-16 ч;
- ii) pH wP доводили до 6,8-7,2 и добавляли к смеси DT-НерВ, полученной на этапе (i), затем доводили значение pH до 6,2-6,5;
- iii) к указанной выше смеси DTwP-НерВ добавляли исходный раствор антигена S19 IPV и затем физиологический раствор;
- iv) добавляли раствор 2-PE, и смесь охлаждали до 2-8°C;
- v) к смеси, полученной на этапе (iv), добавляли HibTT;
- vi) объем доводили физиологическим раствором и полученный раствор разливали по отдельным емкостям.

Пример 5. Состав 14-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины (с консервантом)

Серотип конъюгата	Количество (мкг)/ доза (0,5 мл)
1	2,2
3	2,2
4	2,2
5	2,2
6B	4,4
7F	2,2
9V	2,2
14	2,2
18C	2,2

19A	2,2
19F	2,2
22F	2,2
23F	2,2
33F	2,2
Вспомогательные вещества	
Янтарная кислота	295 мкг
Элементарный алюминий в виде геля фосфата алюминия	0,5 мг
Полисорбат 20	100 мкг
2-феноксизтанол	3 мг
Бензиловый спирт	2 мг
0,9% раствор хлорида натрия (мас/об)	qs

Пример 6. Состав 14-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины (с консервантом)

Серотип конъюгата	Количество (мкг)/ доза (0,5 мл)
1	2,2
3	2,2
4	2,2
5	2,2
6B	4,4
7F	2,2
9V	2,2
14	2,2
18C	2,2
19A	2,2
19F	2,2
22F	2,2
23F	2,2
33F	2,2
Вспомогательные вещества	
Янтарная кислота	295 мкг
Элементарный алюминий в виде геля фосфата алюминия	0,5 мг
Полисорбат 80	100 мкг
2-феноксизтанол	3 мг
Бензойная кислота	2 мг
0,9% раствор хлорида натрия (мас/об)	qs

Пример 7. Состав 14-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины (с консервантом)

Серотип конъюгата	Количество (мкг)/ доза (0,5 мл)
1	2,2
3	2,2
4	2,2
5	2,2
6B	4,4
7F	2,2
9V	2,2
14	2,2
18C	2,2
19A	2,2
19F	2,2
22F	2,2
23F	2,2
33F	2,2
Вспомогательные вещества	
Янтарная кислота	295 мкг
Элементарный алюминий в виде геля фосфата алюминия	0,5 мг
Полоксамер 188	1000 мкг
2-феноксизтанол	3 мг
Фенолокислота	2 мг
0,9% раствор хлорида натрия (мас/об)	qs

Пример 8. Иммунизация кроликов препаратом PCV, содержащим консервант.

Чтобы установить, оказывает ли состав, содержащий композицию консервантов, какое-либо отрицательное воздействие на титр антител в сыворотке, получали состав вакцины, содержащий два консерванта (пример 3). Другой состав без консервантов, но содержащий точно такое же эксципиент, использовали в качестве "контроля" (пример 2). Эти полисахаридные конъюгаты адсорбировали в геле фосфата алюминия и оценивали на предмет критических характеристик качества вакцины в соответствии с руководящими принципами фармакопеи.

Выращивали здоровых кроликов массой от 1,5 до 2 кг, которых содержали в закрытом помещении. Кроликов иммунизировали вышеуказанным составом. Каждую группу, состоящую из 7 кроликов, иммунизировали составом из примера 2 или примера 3 в дни 1, 15 и 29. Образцы крови собирали в дни 0 (до иммунитета), 15 (тестовый забор крови) и 36 (окончательный забор крови). Сыворотки кроликов, собранные в день 0 (PD1) и день 40 (PD3), анализировали на наличие серотип-специфического иммунного ответа с помощью ELISA. ELISA выполняли в соответствии с протоколом, предложенным ВОЗ.

Размер группы	График	
	Иммунизации	Забора крови
По 7 кроликов	День 1, день 15 & день 29	День 0 (PI), день 12, день 26 & день 40 (PD3)

Оценка титров

Титр антител у иммунизированных животных задавали в виде величины, обратной коэффициенту разведения, который показал в два раза более высокое значение OD_{450nm} по сравнению с величиной титра до иммунизации (приблизительно 0,2 OD). Титр сывороточных антител каждого животного (n=7) наносили на график с помощью MedCalc, используя логарифмическую шкалу (по оси y). Планка ошибок указывает на отклонение при 95% доверительном интервале (CI). Средняя точка на планке ошибок представляет средний групповой титр антител в сыворотке.

Ниже приведено руководство по чтению графика, в котором описано, как построен график (фиг. 1). Вкратце, легенда на оси абсцисс содержит идентификатор состава, проанализированный образец крови и тестируемый серотип. Например, PI_ST1 означает титр сывороточных антител у кроликов, иммунизированных препаратом, описанным в примере 2, в образце крови, полученном до иммунизации, по сравне-

нию с серотипом 1, PD3ST1 означает титр сывороточных антител у кроликов, иммунизированных препаратом, описанным в примере 2, в образце крови, полученном после введения дозы 3, по сравнению с серотипом 1. PD3ST22F означает титр сывороточных антител у кролика, иммунизированного составом, описанным в примере 2, в образце крови, полученном после введения дозы 3, по сравнению с серотипом 22F, и так далее (фиг. 2 А и В). У кроликов до иммунизации предполагается обычный фоновый титр. Однако после иммунизации третьей дозой титр сывороточных антител увеличивается в несколько раз, что указывает на устойчивый и специфический иммунный ответ у иммунизированных животных.

Аналогичным образом, PIST1 на фиг. 3 А и В означает титр сывороточных антител у кроликов, иммунизированных препаратом, описанным в примере 3, в образце, полученном до иммунизации, по сравнению с серотипом 1, PD3ST1 означает титр сывороточных антител у кроликов, иммунизированных составом, описанным в примере 3, в образце крови, полученном после введения дозы 3, по сравнению с серотипом 1, PD3ST22F означает титр сывороточных антител у кролика, иммунизированного составом, описанным в примере 3, в образце крови, полученном после введения дозы 3, по сравнению с серотипом 22F и так далее. Можно видеть, что титры сывороточных антител у кроликов, иммунизированных препаратом, описанным в примере 3, аналогичны титрам, наблюдаемым у кроликов, иммунизированных препаратом, описанным в примере 2. Следовательно, данные, приведенные в настоящем описании, указывают на то, что присутствие композиции консервантов не оказывает отрицательного воздействия на иммуногенность состава вакцины.

Концентрация консерванта, выбранная для тестирования иммунного ответа, составляла 0,6 мг/мл 2-РЕ и 0,2 мг/мл м-крезола. Как показано на фигурах, при этой концентрации консервантов не наблюдается ингибирующее действие на иммунный ответ у кроликов, и ожидается, что более низкие концентрации также не будут оказывать отрицательного воздействия на иммунный ответ.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Состав вакцины, содержащий систему консервантов, включающую 2-феноксизтанол в концентрации от 0,1 до 0,6% и один другой консервант, выбранный из группы, состоящей из м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты.

2. Состав вакцины по п.1, в котором концентрация м-крезола, бензилового спирта, фенола и бензойной кислоты находится в диапазоне от 0,005 до 0,3%.

3. Состав вакцины по п.1, содержащий один или более фармацевтически приемлемых носителей.

4. Состав вакцины по п.1, представляющий собой моновалентную вакцину или поливалентную комбинированную вакцину.

5. Состав вакцины по п.4, представляющий собой состав моновалентной вакцины, содержащий антиген, выбранный из группы, содержащей *Streptococcus pneumonia* (пневмококковый капсульный полисахарид), *Neisseria meningitidis* (Men A, C, W-135, X или Y), *Salmonella typhi* (Vi), *Salmonella paratyphi* (0:2), *Haemophilus influenza* (Hib-PRP), *Corynebacterium Diphtheriae* (дифтерийный анатоксин - DT), *Bordetella pertussis* (wP/aP), *Clostridium tetani* (столбнячный анатоксин А), вируса гепатита А (HAV), вируса гепатита В (HBV), вируса гепатита С (HCV), инактивированного вируса японского энцефалита, вируса бешенства и инактивированного вируса полиомиелита.

6. Состав вакцины по п.4, представляющий собой состав поливалентной вакцины, выбранный из группы, содержащей бивалентную вакцину, трехвалентную вакцину, четырехвалентную вакцину, пятивалентную вакцину, шестивалентную вакцину и пневмококковую конъюгированную вакцину.

7. Состав поливалентной вакцины по п.6, в котором бивалентную вакцину выбирают из группы, содержащей вакцину Td, конъюгат Vi:O2 и MR;

и в котором трехвалентную вакцину выбирают из группы, содержащей DTwP, Vi:O2-НерА и MMR;

и в котором четырехвалентную вакцину выбирают из группы, содержащей DTwP-Hib, DTaP-Hib, DTwP-IPV, DTwP-НерВ, ACW-135Y;

и в котором пятивалентную вакцину выбирают из группы, содержащей DTwPHib-НерВ и DTaPHib-НерВ;

и в котором шестивалентную вакцину выбирают из группы, содержащей DTwPHib-НерВ-IPV и DTaPHib-НерВ-IPV.

8. Состав вакцины по п.6, в котором пневмококковая конъюгированная вакцина содержит один или более конъюгатов пневмококкового капсульного полисахарида с белком, систему консервантов, охарактеризованную в п.1 и, необязательно, один или более фармацевтически приемлемых носителей.

9. Состав вакцины по п.8, в котором конъюгаты пневмококкового капсульного полисахарида с белком включают капсульные полисахариды *Streptococcus pneumonia*, выбранные из группы, включающей серотипы 1, 2, 3, 4, 5, 6А, 6В, 6С, 6D, 7F, 8, 9N, 9V, 10А, 11А, 12F, 14, 15А, 15В, 15С, 16F, 17F, 18С, 19F, 19А, 20А, 20В, 22F, 23А, 23В, 23F, 24В, 24F, 31, 33F, 34, 35В, 35F, 38, 39 и 45;

и в котором каждый полисахарид конъюгирован с белком-носителем, выбранным из PsaA, CRM197, дифтерийного анатоксина (DT), столбнячного анатоксина (TT), коклюшного анатоксина, холерного анатоксина, белка D *Haemophilus influenzae* или их комбинации.

10. Состав вакцины по п.9, в котором каждый пневмококковый капсульный полисахарид выбирают из серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 15B, 15C, 16F, 17F, 18C, 19F, 19A, 20A, 20B, 22F, 23A, 23B, 23F, 24B, 24F, 31, 33F, 34, 35B, 35F, 38, 39 и 45, конъюгированных с белком-носителем, содержащий систему консервантов, охарактеризованную в п.1, причем система консервантов содержит 2-феноксиэтанол в концентрации от 0,1 до 0,6% и один другой консервант, выбранный из группы, содержащей м-крезол в концентрации в диапазоне от 0,005 до 0,3%, бензиловый спирт в концентрации в диапазоне от 0,01 до 1% и бензойную кислоту в концентрации в диапазоне от 0,01 до 1%, и причем состав вакцины дополнительно содержит один или более фармацевтически приемлемых носителей или эксципиентов.

11. Состав вакцины по п.10, выбранный из одного из следующих:

а) 14-валентной пневмококковой капсульной вакцины на основе конъюгата полисахарида с белком, содержащей капсульные полисахариды серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F и 33F,

б) 20-валентной пневмококковой капсульной вакцины на основе конъюгата полисахарида с белком, содержащей капсульные полисахариды серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C или 6D, 7F, 9V, 11A, 12F, 14, 15A, 18C, 19A, 19F, 22F, 23A, 23F и 35B,

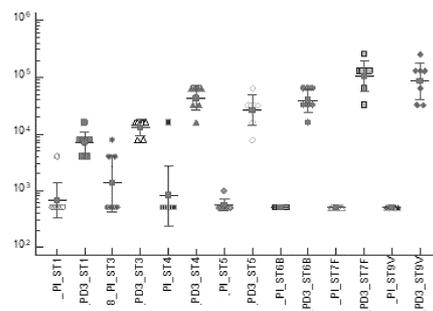
с) 20-валентной пневмококковой капсульной вакцины на основе конъюгата полисахарида с белком, содержащей капсульные полисахариды серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C или 6D, 7F, 9V, 14, 15A, 15C, 18C, 19A, 19F, 23A, 23B, 23F, 24F и 35B,

д) 24-валентной пневмококковой капсульной вакцины на основе конъюгата полисахарида с белком, содержащей капсульные полисахариды серотипов *Streptococcus pneumoniae* 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 18C, 19A, 19F, 22F, 23A, 23B, 23F, 24F, 33F и 35B.

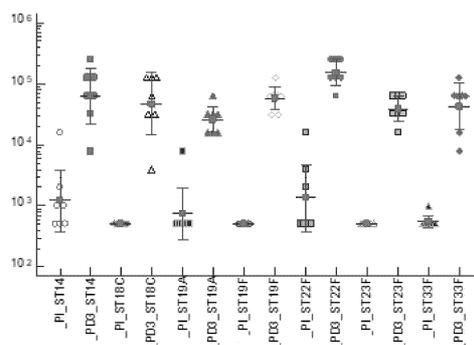
Титр сывороточных антител у кроликов: схема графика



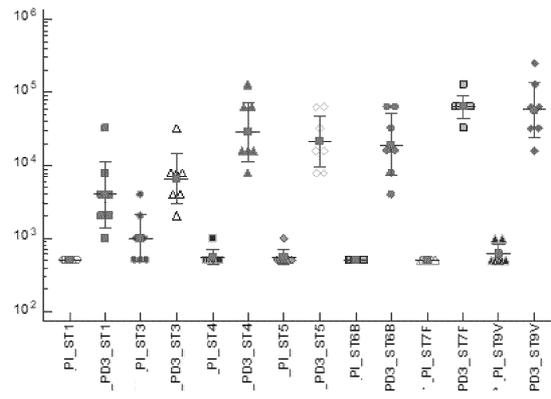
Фиг. 1



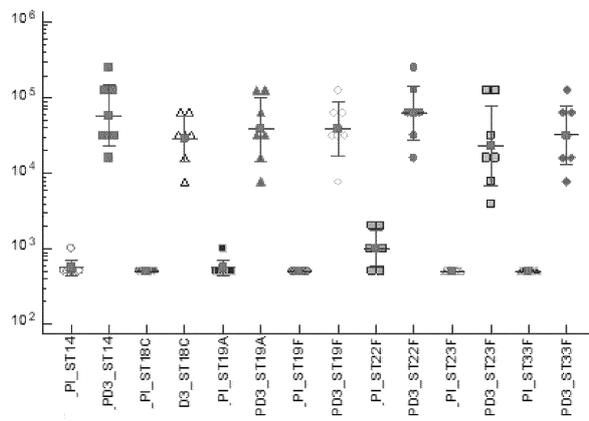
Фиг. 2А



Фиг. 2В



Фиг. 3А



Фиг. 3В