



(12) FASCICULE DE BREVET

- (11) N° de publication : **MA 32819 B1**
- (43) Date de publication : **01.11.2011**
- (51) Cl. internationale :
**A61K 39/05; A61K 39/08;
A61K 39/10; A61K 39/102;
A61K 39/13; A61K 39/29**

-
- (21) N° Dépôt :
33875
- (22) Date de Dépôt :
20.05.2011
- (30) Données de Priorité :
24.10.2008 IN 2438/DEL/2008
- (86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT :
PCT/IN2009/000600 23.10.2009
- (71) Demandeur(s) :
**PANACEA BIOTEC LTD, B-1 EXTN./A-27, MOHAN CO-OPERATIVE INDUSTRIAL
ESTATE MATHURA ROAD NEW DELHI 110 044 (IN)**
- (72) Inventeur(s) :
JAIN, Rajesh ; SINGH, Sukhjeet ; JAMBU, Lavit
- (74) Mandataire :
ABU-GHAZALEH INTELLECTUAL PROPERTY (TMP AGENTS)

-
- (54) Titre : **VACCIN COMBINE NOTAMMENT CONTRE LA COQUELUCHE ACELLULAIRE**
- (57) Abrégé : LA PRÉSENTE INVENTION CONCERNE UN VACCIN COMBINÉ COMPRENANT UN MÉLANGE D'ANTIGÈNES POUR LA PROTECTION CONTRE DES MALADIES TELLES QUE LA DIPHTÉRIE, LE TÉTANOS, LA COQUELUCHE ACELLULAIRE, DES INFECTIONS PAR HAEMOPHILUS INFLUENZAE ET DES VIRUS DE LA POLIO. LA PRÉSENTE INVENTION CONCERNE AUSSI L'INCLUSION D'UN OU DE PLUSIEURS ANTIGÈNES POUR LA PROTECTION CONTRE DES INFECTIONS PAR, LE VIRUS DE L'HÉPATITE, ET D'AUTRES PATHOGÈNES, DE SORTE QUE L'ADMINISTRATION DE CE VACCIN PUISSE SIMULTANÉMENT IMMUNISER UN SUJET CONTRE PLUS D'UN PATHOGÈNE. CETTE INVENTION EN PARTICULIER CONCERNE UN VACCIN COMBINÉ STABLE, COMPLÈTEMENT LIQUIDE, COMPRENANT LES ANTIGÈNES TELS QUE SUSMENTIONNÉS ET LES PROCÉDÉS DE FABRICATION DE CE VACCIN.

- أ -

(لقاح مشترك مع سعال ديكبي لا خلوي)

الملخص

يتعلق الاختراع الحالي بلقاح مشترك يشتمل على خليط من مولدات ضد للوقاية ضد أمراض مثل الدفتريا، والتيتانوس، والسعال الديكي اللا خلوي وعدوى تسببها فيروسات إنفلونزا مولعة بالدم وشلل الأطفال. يتعلق أيضاً 5 الاختراع الحالي بالتلقيح بمولدات ضد للوقاية ضد أنواع عدوى يسببها فيروس الالتهاب الكبدي ومسببات أمراض أخرى، مثل إعطاء لقاح يمكنه في نفس الوقت تحصين خاضع ما ضد أكثر من مسبب مرض واحد. ويتعلق الاختراع بشكل خاص بلقاح مشترك ثابت سائل بالكامل يشتمل على مولدات الضد كما ذكر من قبل وبطرق لتصنيعه.

-2-

توكسين التيتانوس (TT)، ويتم أيضاً استخدام CRM197 توكسين دفتريا طافر في لقاحات معينة.

مولدات ضد السعال الديكي

مرض السعال الديكي تسببه *Bordetella pertussis*. ويعد هذا مرضاً منهكاً وخطيراً، بل قد يؤدي إلى الوفاة. تعتمد اللقاحات الأولية ضد المرض على خلايا كاملة تمت معالجتها بالكيماويات مثل الفورمالدهيد لقتل الخلايا وافتقاد فعالية المواد السامة. بالرغم من أنها فعالة بدرجة عالية، فإن تلك اللقاحات التي تدعى "لقاحات الخلية الكاملة (WP)" فإنه يصحبها تأثيرات جانبية تشمل الحمى وتفاعلات موضعية. الحاجة إلى لقاح أكثر تحديداً صارت معروفة وقد غير الباحثون بؤرة اهتمامهم إلى تطوير لقاح يشمل على عدد أقل من مولدات الضد عالية النقاء، تسمى "لقاح مكون". لقد اقترحت عوامل كثيرة مصاحبة للسمية مثل توكسين السعال الديكي (PT)، هيماجلوتينين فتيلي (FHA)، بيرتاكتين (PRN أو P69)، بروتينات هدية (FIM 1 و 2 و 3)، سيكلاز أدنيل، عديدات سكريات دهنية، بروتينات أخرى خارج الغشاء لأن توجد في "لقاح لا خلوي"، وهو أقل تحديداً إذا ما قورن باللقاح المكون. لقد ركز الكثير من العمل على لقاح يعتمد على PT وهو يعتبر واقياً بشكل جزئي فقط. كانت توليفة من PT/FHM أكثر فعالية ولكنها مازالت أقل توليداً للمناعة من لقاح يعتمد على wp. وجد أن مرشحاً قوياً آخر هو PRN أو P69 يجعل لقاح السعال الديكي أكثر فعالية عند توليفة مع PT وFHA. لقاح سعال ديكي معين به أيضاً بروتين FIM كشريك رابع يضيف تولد مناعة ضد السعال الديكي.

مولدات ضد التهاب المادة السنجابية الشوكي (شلل الأطفال)

يوجد نوعان مختلفان من اللقاح متاحان: 20

-3-

- لقاح شلل أطفال حي موهن (مضعف) يعطي بالفم (OPV) طوره دكتور ألبرت سابين في 1961، OPV، يحتوي على سلالة سابين، ويعطى بالفم.
- لقاح شلل أطفال محمد للفعالية (ميت) (IPV) طوره عام 455 دكتور جوناس سولك، IPV، يشتمل على سلالة سولك، ويعطى بالحقن.

5 تعتبر كل من لقاحات شلل الأطفال الحية الموهنة (OPV) والمخمدة للفعالية (IPV) فعالة في مكافحة مرض شلل الأطفال عبر العالم. قد يشتمل لقاح شلل الأطفال على سلالة سولك أو سلالة سابين. النوع الأول Mahoney، والنوع الثاني MEF، والنوع الثالث Saukett عبارة عن سلالات سولك وقد تم استخدامها في اللقاح ضد مرض شلل الأطفال. تشتمل سلالات سابين على سلالات سابين، وسابين 2.

10 مولدات ضد إنفلونزا مولعة بالدم (Hib)

تعتبر بكتيريا الأنفلونزا المولعة بالدم عبارة عن مكورات عصوية سالبة الجرام تعد جزءاً عادياً من كائنات الجهاز التنفسي العلوي. تعتبر بكتيريا الإنفلونزا المولعة بالدم من النوع ب (Hib) السبب الرئيسي للعدوى المتفشية التي يحملها الدم في الأطفال الصغار وتعد السبب الرئيسي للالتهاب السحائي في أول سنتين من العمر. بدأ التحصين ضد الإنفلونزا المولعة بالدم في كندا في 1987 باستخدام لقاح عديد سكريات [فوسفات بولي ريبوز ريبيتول (PRP)]. تعتبر كبسولة فوسفات بولي ريبوز ريبيتول (PPP) ل Hib هي عامل السمية الرئيسي للكائن. الجسم المضاد ل PRP هو المساهم الرئيسي للفعالية المبيدة للبكتيريا في المصل، وزيادة مستويات الجسم المضاد يصحبها تناقص خطر المرض المتفشي. PRP عبارة عن مولد ضد مستقل عن خلايا T ومن ثم فإنه يتميز بواسطة (أ) حث استجابة رديئة للجسم المضاد في الرضع وأطفال عمرها أقل من 18 شهر، (ب) استجابة للجسم المضاد متغيرة وأصغر بشكل كمي من تلك المشاهدة مع

20

-4-

مولدات ضد تعتمد على خلايا T، (ج) إنتاج نسبة أعلى من الجلوبيولين المناعي M (IgM)،
و(د) القدرة على حث استجابة معززة.

أثبتت اللقاحات الأولية المعتمدة على مكون PRP فقط أنها فعالة في الأطفال. تم توجيه جهود
أخرى تجاه لقاح مترافق PRP، حيث يتم ترافق PRP مع بروتينات تسمى بروتينات حاملة مثل
بروتين الغشاء الخارجي *Neisseria meningitides*، وشبيه سم الدفتريا، وشبيه سم التيتانوس،
و CRM197. 5

مولدات ضد الالتهاب الكبدي (Hep)

توجد سلالات مختلفة من فيروس الالتهاب الكبدي. الالتهاب الكبدي ب هو مرض يسببه
فيروس الالتهاب الكبدي ب (HBV) والذي يصيب كبد الفصيلة الإنسانية بما فيها البشر،
وتسبب التهاباً يسمى الالتهاب الكبدي. وهو يتراوح في الشد من مرض معتدل يستغرق بضع
أسابيع (حاد)، إلى مرض خطير طويل (مزمن) يمكن أن يؤدي إلى مرض الكبد أو سرطان
الكبد. يحتوي اللقاح ضد المرض على بروتين غلاف فيروسي، مولد ضد سطحي للالتهاب
الكبدي ب (HBsAg). أقرت هيئة الأغذية والأدوية الأمريكية (FDA) لقاحات تحتوي على
HepB هي Recombivax HB® و Comvax® بواسطة Merck, Engerix-B® و Pediarix®
بواسطة Glaxo SmithKline Biologicals. 10 15

مولدات ضد أخرى

مولدات ضد الأخرى التي يهتم بها الجنس البشري هي الإنفلونزا المولعة بالدم (الأنواع المصلية
أ، ج، د، هـ، والسلالات غير المغلفة)، الالتهاب الكبدي (سلالات أ، ج، د، وهـ، و، ز)،
الالتهاب السحائي أ أو ب أو ج. الإنفلونزا، مكورات الالتهاب الرئوي، المكورات السبحية،
الجمرة الخبيثة، حمى الضنك، الملاريا، الحصبة، التهاب الغدة النكفية، الحصبة الألمانية، BCG، 20

-5-

التهاب الدماغ الياباني، الفيروس الدوار، الجديري، الحمى الصفراء، التيفود، مرض سينجل،
جدري الدجاج، وأمراض أخرى.

اللقاحات المشتركة

على الرغم من البحث لعقود طويلة في مجال اللقاحات، فإن الأمراض المعدية ظلت تمثل تهديداً
للنوع البشري. تعد اللقاحات المشتركة التي تقي ضد أمراض مختلفة مرغوباً فيها بشدة حيث أنها
تخفض عدد الجرعات المعطاة، وتخفض تكاليف الإعطاء والإنتاج وتحسن استجابة المريض
كذلك. تعتبر تلك اللقاحات المشتركة بصفة عامة مقبولة بشكل أفضل.

مع ذلك، فإن الظاهرة الموثقة بشكل جيد للتنافس المولد للضد قد عقدت وأعادت تطوير
لقاحات عديدة التكافؤ. تشير هذه الظاهرة إلى الملاحظة أن إعطاء مولدات ضد متعددة معاً
غالباً ما ينتج عنه استجابة مضمحلة لمولدات ضد معينة بالنسبة للاستجابة المناعية لمولدات
الضد هذه عند إعطائها بشكل منفصل.

لقد ركزت الأبحاث المبكرة على تطوير لقاح له تكافؤات متعددة موجه ضد أمراض وأنواع
عدوى مختلفة. أحد تلك اللقاحات المشتركة المعروفة بشكل جيد هو ذلك الذي يوفر وقاية
ضد الدفتيريا والتيتانوس والسعال الديكي اللا خلوي. يشتمل عادة مكون السعال الديكي اللا
خلوي (ap) على اثنين أو جميع التوكسينات المنزوعة السمية الثلاثة لـ PT (توكسين السعال
الديكي)، و FHA (هيماجلوتينين فتيلي) و PRN أو P69 (بيرتاكين). في بعض الحالات، فإنه
يمكن أن توجد أيضاً مولدات ضد أخرى للسعال الديكي مثل مولدات ضد هديية (Fim 1 أو
2 أو 3) تعتبر (Infanrix® (GlaxoSmithKline Biologicals), Tripedia® and Daptacel®
(Sanofi Pasteur) لقاحات مشتركة DTaP مصدق عليها بواسطة FDA.

من المرغوب فيه إضافة مولدات ضد أخرى لذلك اللقاح المشترك سوف تعطي وقاية ضد

الأمراض التي يسببها فيروس التهاب الكبد (Hep)، والإنفلونزا المولعة بالدم (Hib) وفيروسات شلل الأطفال (IPV). من المرغوب فيه أيضاً أن يكون لدينا مولدات ضد توفر وقاية ضد أمراض أخرى مضافة إلى اللقاحات المشتركة المشار إليها.

صدقت حديثاً FDA على لقاح Kinrix® بواسطة GlaxoSmithKline Biologicals وهو عبارة عن لقاح مشترك به IPV جنباً إلى جنب مع مولدات الضد (Infanrix®) DTaP. يعتبر

5

Infanrix-Hib® توليفة أخرى مقدمة بواسطة GlaxoSmithKline Biologicals حيث توجد مولدات ضد DTaP في صورة سائلة ومولد ضد Hib يتم تحفيته بالتجميد ويورد في قارورة منفصلة. يشتمل Pediarix® و Infanrix penta® بواسطة GlaxoSmithKline Biologicals على

جرعة لقاح مشترك في قارورة منفصلة تشتمل على DTaP جنباً إلى جنب مع HepB ومكون IPV. يعد Pentacel® by Sanofi Pasteur توليفة من مكونات لقاحية خمسة موردة لـ DTaP-

10

IPV في صورة سائلة ومكون Hib في صورة مجففة. يعتبر Infanrix hexa® لقاحاً مشتركاً من ستة مكونات بواسطة GlaxoSmithKline Biologicals يقي ضد أمراض مثل الدفتريا،

التيتانوس، السعال الديكي، شلل الأطفال، وأنواع عدوى يسببها فيروس HepB والإنفلونزا المولعة بالدم من النوع ب. حتى في هذه التوليفة فإن جميع المكونات فيما عدا المكون Hib توجد

في صورة سائلة، ويوجد المكون Hib في صورة مجففة بالتجميد. بذلك فإن لأحد من اللقاحات المشتركة المذكورة من قبل يتم تسويقه كصيغ سائلة بالكامل ويشتمل على مولدات ضد مثل

15

Hib و Hep جنباً إلى جنب مع مولدات ضد توفر الوقاية ضد الدفتريا والتيتانوس والسعال الديكي، وشلل الأطفال، في قارورة مفردة.

ذكرت البراءة الأمريكية رقم 6756040 أن الخلط البسيط لمكونات اللقاح ينتج عنها خفضاً في عيارات الجسم المضاد إلى مكون عديد السكريات، بسبب التداخل المولد للضد. تتعلق البراءة

20

الأمريكية 40. بصيغة لقاح للوقاية من أنواع العدوى بالإنفلونزا المولعة بالدم (Hib) من النوع

ب حيث يتطلب أن يتم امتزاز المترافق Hib b على فوسفات ألومنيوم بحيث يثبط خفضاً في الأجسام المضادة لعدد السكريات. كذلك فإن مولد ضد Hib b يتم تحفيته بالتجميد وخلطه مع مولدات ضد أخرى توجد في صورة سائلة، فيما لا يزيد عن ساعة واحدة قبل إعطائه. بذلك فإنه توجد معلومات في البراءة الأمريكية 40. عن لقاح مشترك يوجد كصيغة سائلة بالكامل ويشتمل على مولدات ضد تقوم وقياء ضد الدفتريا، التيتانوس، السعال الديكي وأنواع عدوى تسببها فيروسات الأنفلونزا المولعة بالدم والالتهاب الكبدي وشلل الأطفال.

تتعلق البراءة الأمريكية رقم 6013264 بواسطة SmithKline Beecham Biologicals بلقاح متعدد التكافؤ يشتمل على HBsAg (مولد ضد HepB) ممتز على فوسفات ألومنيوم. وهي تؤيد أنه عند استخدام HBsAg ممتز على هيدروكسيد ألومنيوم في لقاح مشترك، فإنه يوجد نقص كبير في الاستجابة المناعية لمكون HBs Ag مما ينتج عن تحويل غير كاف في المصل بعد التلقيح. وذكرت كذلك أنه توجد حاجة لتجنب استخدام هيدروكسيد الألومنيوم كمادة مساعدة لامتناز HBsAg في لقاح متعدد التكافؤ. ذكرت المواصفة أن المكون Hib b يمكن إضافته بشكل مرتجل إلى لقاح الاختراع. بذلك فإنه لا توجد معلومات في البراءة الأمريكية 264 عن لقاح مشترك يوجد في صيغة سائلة بالكامل ويشتمل على مولدات ضد تقدم وقياء ضد الدفتريا، والتيتانوس، والسعال الديكي، وأنواع عدوى تسببها فيروسات الإنفلونزا المولعة بالدم، والالتهاب الكبدي، وشلل الأطفال. كذلك فإن اللقاح وفقاً للبراءة الأمريكية رقم 264 له متطلبات نوعي أن مولد ضد HepB يتم امتزازه على فوسفات ألومنيوم وليس هيدروكسيد الألومنيوم.

يتعلق طلب PCT رقم WO 2007054820 بواسطة Novartis Vaccines and Diagnostics بتكيفية لقاح حيث يتم بشكل نوعي امتزاز مولدات الضد D و T على هيدروكسيد ألومنيوم ويتم امتزاز مولدات الضد Hibb و HepB على فوسفات ألومنيوم. مع ذلك فإن هذا الطلب لا يذكر تحضير لقاح مشترك ثابت سائل بالكامل حيث يتم امتزاز مولدات الضد D و T و aP على

فوسفات ألومنيوم ويتم امتزاز مولد ضد Hep على هيدروكسيد ألومنيوم.

يوفر طلب PCT رقم WO 1998000167A1 بواسطة Connaught Lab تركيبة مولدة للمناعة متعددة التكافؤ لإضفاء وقاية في عائل ضد مرض تسببه أنواع العدوى بواسطة *Bordetella pertussis, Clostridium tetani, Corynebacterium diphtheriae* وفيروس شلل الأطفال و/أو الإنفلونزا المولعة بالدم. المكون Hib b للقاح، وفقاً للمواصفة عبارة عن مكون مجفف بالتجميد يجب إعادة تكوينه قبل خلطه مع المكونات الأخرى للقاح. بذلك فإنه لا توجد معلومات في المواصفة تتعلق بلقاح مشترك سائل بالكامل يشتمل على جميع مولدات الضد المذكورة.

التجفيد ويسمى أيضاً التجفيف بالتجميد، عبارة عن عملية مكلفة تسبب أيضاً كثيراً من الإجهاد على البروتينات. عند التجفيف بالتجميد لأي مكون للقاح، فإنه عند وقت إعطاء اللقاح، من المطلوب أن يتم خلط ناتج التجفيف بالتجميد مع سائل آخر أو مكون سائل للقاح المشترك. يمثل هذا قيد تكميلي للممارس ويمثل خطر أن يتم تنفيذه بشكل سيء. عندئذ تم اقتراح أن يكون لدينا محقن متعدد الحجيرات بحيث يكون المكون المجفف بالتجميد في إحدى الحجيرات ويكون المكون السائل للقاح في أخرى. مع ذلك فإن ذلك المحقن الذي يمكن خلط محتوياته عند زمن إعطاء اللقاح، لا يؤدي بشكل مرضي على مستوى تقليل تكلفة الإنتاج بالإضافة إلى مستوى العمليات التي تنفذ بواسطة الممارس.

من ثم فإنه من المرغوب فيه تفادي هذه الخطوة للتجفيف بالتجميد وتوفير لقاح مشترك توجد به جميع المكونات معاً ويكون في صورة سائلة بالكامل. سوف يسهل هذا إعطاء اللقاح، ويجعل المريض يستجيب وكذلك يخفض تكاليف الإنتاج لذلك فإنه من المرغوب فيه أن يكون لدينا مولد ضد Hib مضافاً إلى المكون السائل للقاح المشترك وبذلك يكون لدينا لقاح متعدد التكافؤ سائل بالكامل.

يتعلق طلب PCT رقم WO 2004110480 بواسطة Glaxo SmithKline Biologicals relates بلقاح يشتمل على عديد سكريات Hibb. يذكر الطلب أن الخلط البسيط لمكونات اللقاح المشترك يعد معقداً بواسطة حقيقة أنه لا يمكن بفعالية خلط جميع مولدات الضد معاً. ولقد ذكر أنه يوجد تداخل بين هيدروكسيد الألومنيوم في لقاح DTP و PRP. يهدف الاختراع في الطلب الدولي 480 إلى تقليل هذا التداخل إلى أدنى حد في ذلك اللقاح المشترك المحضر بشكل مرتجل حيث يتم الامتزاز المسبق ل PRP على فوسفات الألومنيوم. يوفر أيضاً الاختراع تركيبات ولقاحات ولقاحات مشتركة مولدة للمناعة تشتمل على PRP والذي تتم حمايته إلى حد ما من التداخل المناعي. لقد وجد المخترعون أن ما سبق يمكن تحقيقه بواسطة تضمين سواغ بوليمر بولي أنيوني مع اللقاح المشتمل على PRP.

مع ذلك، فإن استخدام البوليمر البولي أنيوني في صيغة اللقاح قد لا يكون مطلوباً حيث أنه قد يرفع تكلفة صياغة اللقاح. كذلك، بما أن اللقاح الهدف منه في النهاية الاستخدام الآدمي، فإنه بشكل مثالي يجب أن يكون به أقل المكونات الممكنة. يعني استخدام مكونات إضافية إضافة مواد إلى الصيغة قد يتفاعل معها الجسم وينتج أجساماً مضادة. تلك الاستجابة للجسم المتلامس مع تلك المكونات للمستحضر المولد للمناعة قد لا يكون مرغوباً فيها.

تتعلق البراءة الأمريكية رقم 6333036 بواسطة Pasteur Merieux Serums بتركيبات لقاح تشتمل على عديد سكريات مغلف من الإنفلونزا المولعة بالدم من النوع ب أو فوسفات بولي ريوسيل ريبيتول عالية الوزن الجزيئي (PRP) مقترنة بلاكسين التيتانوس، بالإضافة إلى مادة مساعدة أساسها الألومنيوم. المواد المساعدة التي أساسها الألومنيوم المستخدمة في الاختراع لها نقطة شحنة صفر أقل من 7.2 تقريباً مع ذلك، فإن البراءة لم تذكر بشكل خاص أن تحضير لقاح مشترك يشتمل على مولدات ضد تقدم الوقاية ضد الدفتريا والتيتانوس والسعال الديكي وأنواع عدوى تسببها فيروسات الإنفلونزا المولعة بالدعم وشلل الأطفال، في صورة سائلة بالكامل،

حيث مولد ضد Hib لا يتم امترازه بشكل رئيسي على أي مادة مساعدة. لم تذكر هذه البراءة أيضاً تحضير لقاح مشترك ثابت سائل بالكامل يشتمل على مولدات ضد تقدم الوقاية ضد الدفتريا والتيتانوس والسعال الديكي وأنواع عدوى تسببها فيروسات الإنفلونزا المولعة بالدم والالتهاب الكبدي وشلل الأطفال، حيث يتم امتراز مولدات ضد الدفتريا والتيتانوس والسعال الديكي على فوسفات ألومنيوم ويتم امتراز مولد ضد الالتهاب الكبدي على هيدروكسيد ألومنيوم. 5

تتعلق البراءة الأوروبية رقم 1028750 بواسطة Sanofi Pasteur MSD، بلقاح متعدد التكافؤ يضمني وقاية ضد أمراض تسببها *Bordetella pertussis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium tetani*، وفيروسات شلل الأطفال، وفيروس الالتهاب الكبدي ب، والأنفلونزا المولعة بالدم. مع ذلك فإن البراءة لم تذكر بشكل خاص تحضير لقاح مشترك يشتمل على مولدات ضد توفر الوقاية ضد الدفتريا والتيتانوس والسعال الديكي، وأنواع من العدوى تسببها فيروسات الإنفلونزا المولعة بالدم والالتهاب الكبدي وشلل الأطفال، في صورة سائلة بالكامل، حيث يتم امتراز مولدات الضد D و T و aP على فوسفات ألومنيوم ولا يتم امتراز مولد ضد Hep على هيدروكسيد ألومنيوم. 10

يعد Hexavac® بواسطة Aventis Pasteur MSD عبارة عن لقاح سائل بالكامل مصرح به للوقاية ضد أمراض تسببها الكائنات المذكورة. مع ذلك فإن هذا اللقاح، تم تعليق استخدامه عبر العالم بسبب مسائل تتعلق بما بعد تسويقه باعتباره التفاوت في عملية إنتاج مكون الالتهاب الكبدي ب للقاح والذي قد يؤدي إلى وقاية ممتدة المفعول متناقصة ضد الالتهاب الكبدي ب. 15

بالرغم من أن الأبحاث مستمرة لصنع لقاح متعدد التكافؤ يشتمل على مولدات ضد مختلفة سوف تقدم وقاية ضد عدد من الأمراض، فإنها لم تواجه الحاجة لتوفير لقاح مشترك ثابت 20

- يشتمل على مولدات ضد تقدم وقاية ضد الدفتريا والتيتانوس والسعال الديكي وأنواع من العدوى تسببها الأنفلونزا المولعة بالدم وفيروسات شلل الأطفال، في صورة سائلة بالكامل، حيث لا يتم بشكل رئيسي امتزاز مولد ضد Hib على أي مادة مساعدة. كذلك لا يوجد إفصاح عن صنع لقاح مشترك ثابت يشتمل على مولدات ضد تقدم وقاية ضد الدفتريا والتيتانوس، والسعال الديكي وأنواع من العدوى. تسببها الأنفلونزا المولعة بالدم وفيروسات الالتهاب الكبدي وشلل الأطفال، في صورة سائلة بالكامل، حيث يتم امتزاز مولدات الضد D و T و aP على فوسفات ألومنيوم، ويتم امتزاز مولد ضد Hep على هيدروكسيد ألومنيوم. توجد تقارير متضاربة متاحة تتعلق باستجابات الجسم المضاد ضد مولدات ضد معينة في أطفال محصنين بواسطة إعطاء منفصل وإعطاء مشترك للقاحات مشتركة ولقاح PRP. قد توجد أسباب مختلفة لتلك النتائج تشمل أن اللقاحات غير متطابقة في محتواها المولد للضد، وطريقة التحويل إلى شبه توكسين واستخدام المادة المساعدة أو المادة الحافظة.
- بذلك، فإن اللقاحات المشتركة الحالية المتاحة تجارياً قد لا تحتوي على صيغ مناسبة من مولدات ضد مناسبة في صور مولدة للمناعة مناسبة للحصول على المستويات المطلوبة من الفعالية والتولد المناعي في مجموعة بشرية معرضة لعدد من الأمراض في جرعة واحدة. توجد حاجة للقاح متعدد المكونات يوفر وقاية ضد أنواع مختلفة من العدوى ويكون في صورة سائلة بحيث يوفر سهولة إعطاء وراحة وذو فعالية اقتصادية. سوف يكون من المرغوب فيه توفير لقاح متعدد التكافؤ فعال وثابت ضد أمراض تسببها العدوى بواسطة *Corynebacterium diphtheria*, *Clostridium tetani*, *Bordetella pertussis* وفيروس الالتهاب الكبدي، والأنفلونزا المولعة بالدم، وأمراض أخرى. لكي يكون ذلك اللقاح فعالاً فإن معيار الوقاية المصلية لكل من مولدات الضد الخاصة باللقاح يجب الوفاء به. من أجل هذا توجد حاجة للتغلب على العوائق والتحديات التي يفرضها التنافس والتداخل المولد للضد. يتغلب

الاختراع الحالي على قيود الفن السابق ويحل المشاكل ذات الصلة بواسطة توفير صيغة لقاح مشترك تقي ضد مجموعة من الأمراض.

الكشف عن الاختراع

يتعلق الاختراع الحالي بلقاح مشترك يشتمل على خليط من مولدات ضد للوقاية ضد أمراض مثل الدفتريا، والتيتانوس، والسعال الديكي اللا خلوي وعدوى تسببها فيروسات إنفلونزا مولعة بالدم وشلل الأطفال. يتعلق أيضاً الاختراع الحالي بالتلقيح بمولدات ضد للوقاية ضد أنواع عدوى يسببها فيروس التهاب الكبدى ومسببات أمراض أخرى، مثل إعطاء لقاح يمكنه في نفس الوقت تحصين خاضع ما ضد أكثر من مسبب مرض واحد. ويتعلق الاختراع بشكل خاص بلقاح مشترك ثابت سائل بالكامل يشتمل على مولدات الضد كما ذكر من قبل وبطرق لتصنيعه. 10

يتعلق أيضاً الاختراع الحالي بلقاح خماسي التكافؤ حيث لا يتم بشكل رئيسي امتزاز مولد ضد Hib على أي مادة مساعدة. يتعلق أيضاً الاختراع بلقاح سداسي التكافؤ ثابت سائل بالكامل يشتمل على مولدات ضد تقدم حماية ضد مجموعة من الأمراض، حيث يتم امتزاز مولدات ضد الدفتريا والتيتانوس والسعال الديكي اللا خلوي على فوسفات ألومنيوم ويتم امتزاز مولد ضد الالتهاب الكبدى على هيدروكسيد ألومنيوم. 15

يتعلق أيضاً الاختراع الحالي بلقاح مشترك يشتمل على مجموعة من مكونات لقاحية مناسبة للوقاية من، وتخفيف، وعلاج حالات مرضية متعددة وفيه بمعيار الوقاية المصلية لكي من مكونات اللقاح المذكورة.

الوصف التفصيلي للاختراع

يتعلق الاختراع الحالي بلقاح مشترك ثابت سائل بالكامل يشتمل على مجموعة من مكونات لقاحية تعد مناسبة للوقاية من وتخفيف وعلاج حالات مرضية عديدة وتفي بمعيار الوقاية المصلية لكل من المكونات اللقاحية المذكورة.

5 تشتمل مميزات الاختراع الحالي على لقاح متعدد التكافؤ يمكنه أن يضيف وقاية ضد مدى عريض من الأمراض وأنواع العدوى بأسلوب آمن وفعال. يوفر لقاح الاختراع توليد مناعة لأمراض وأنواع عدوى مختلفة بدون تداخل أي مولد ضد يكون موجوداً في اللقاح. بذلك، فإن جرعة واحدة سوف تولد مناعة ضد أمراض وأنواع عدوى مختلفة، مما يجعل اللقاح أكثر استجابة للمرضى. بما أن جرعة واحدة سوف تقدم مناعة ضد عدد من أنواع العدوى والأمراض، فإن تكلفة التلقيح سوف تنخفض. سوف يكون لقاح الاختراع الحالي مفيداً بمفهوم أنه سينخفض عدد الزيارات لمركز التلقيح وكذلك عدد الجرعات التي يجب إعطاؤها لعدد من الأمراض وأنواع العدوى المختلفة. هذه الصورة للاختراع ستجعله أكثر فائدة ومفيداً بشكل خاص مع المجموعات الأصغر سناً التي تحتاج إلى تلقيح لإضفاء مناعة لعدد كبير من أنواع العدوى والأمراض. بذلك، فإن الاختراع الحالي يوفر لقاحاً أكثر قبولاً.

10

تعريفات

15 يشير المصطلح "سائل بالكامل" كما هو مستخدم في هذا الطلب لوصف لقاح الاختراع، إلى حالة اللقاح حيث تكون جميع مكوناته في حالة سائلة و لا يوجد أي مكون للقاح مقدم في صورة مجففة بالتجميد أو أي صورة أخرى بحيث يجب خلطه مع المكونات الأخرى للقاح قبل إعطائه لخاضع ما.

يصف المصطلح "بروتين حامل" كما هو مستخدم في هذا الطلب المكون البروتيني الذي يترافق معه عدد السكريات المغلف (Hib) المستخدم في اللقاح بحيث يتم تحويل عديد السكريات

20

المستقل عن خلايا T إلى مولد ضد يعتمد على خلايا T.

يصف المصطلح "مادة مساعدة" كما هو مستخدم في هذا الطلب مكون غير مولد للضد لللقاح يعزز الاستجابة المناعية لمولدات الضد الخاصة باللقاح بواسطة تسهيل التلامس بين مولد الضد والجهاز المناعي بواسطة التأثير على نوع وجودة الاستجابة المناعية المتولدة ضد مولد الضد. تسبب المادة المساعدة استجابات مناعية ممتدة ضد مولدات الضد وكذلك قد تعمل لتقليل سمية مولدات ضد معينة أو لتوفير قابلية ذوبان لمولدات ضد معينة.

يعني المصطلح "ثابت" المستخدم في هذا الطلب لوصف لقاح الاختراع أن كل مولد ضد لتركيبية اللقاح له فعالية تولد مناعي أكثر من تلك المحددة كنهاية قبول عادية، بعد حضانة اللقاح عند 5 ± 3 م لمدة شهر على الأقل، ويفضل 12 شهر، والأفضل 24 شهر.

يصف المصطلح "بشكل رئيسي" المستخدم في هذا الطلب كمية امتزاز أو إقران Hib على أي مادة مساعدة، وفي التعبير "Hib" لم يتم امتزازه بشكل رئيسي على أي مادة مساعدة" فإنه يعني أن امتزاز Hib على أي مادة مساعدة أقل من 15%، ويفضل أقل من 10%. لا يخضع مولد ضد Hib لأي خطوة بحيث يتم امتزازه عن عمد على أي مادة مساعدة، وكمية الامتزاز التي قد تحدث بسبب التلامس بين مولد الضد والمادة المساعدة ليست متعمدة.

يعني المصطلح "بحوالي" المستخدم في هذا الطلب لوصف كمية كل مكون موجود في لقاح الاختراع، كمية المكون اللقاحي المذكور الموجودة بكميات يفضل $\pm 20\%$ ، ويفضل أكثر $\pm 10\%$ والأفضل $\pm 5\%$ من الكميات المذكورة لذلك المكون المحدد.

يصف المصطلح "حوالي" كما هو مستخدم في هذا الطلب لوصف زمن تقليب مكونات الخليط أثناء عملية تحضير لقاح الاختراع، ويفضل أن يكون $\pm 20\%$ ، ويفضل أكثر $\pm 10\%$ ، والأفضل $\pm 5\%$ من القيمة المذكورة.

يعني المصطلح "نشط مناعياً" المستخدم في هذا الطلب بالرجوع إلى اللقاح المشترك للاختراع أن اللقاح عند إعطائه الخاضع يكون قادراً على إظهار أجسام مضادة ضد كل مولد ضد من التوليفة المذكورة بحيث يقي اللقاح ضد الأمراض أو أنواع العدوى المناظرة.

يشير المصطلح "إقران أو امتزاز" المستخدم في هذا الطلب بالرجوع إلى مولدات الضد الخاصة باللقاح المشترك للاختراع إلى أي صورة من الارتباط الفيزيائي بين مولد الضد والمادة المساعدة.

5

لقاح الاختراع

يوفر الاختراع الحالي تركيبة لقاح مشترك ثابتة توجد فيها جميع مكونات اللقاح في صورة سائلة في قارورة مفردة.

توفر إحدى صور الاختراع الحالي لقاحاً خماسي التكافؤ ثابت سائل بالكامل يشتمل على مولدات ضد دفتيريا (D) وتيتانوس (T)، وسعال ديكبي لا خلوي (aP)، وإنفلونزا مولعة بالدم (Hib)، وفيروس شلل أطفال (IPV)، حيث لا يتم بشكل رئيسي امتصاص Hib على أي مادة مساعدة.

10

تتعلق صورة أخرى للاختراع الحالي بلقاح سداسي التكافؤ ثابت سعال بالكامل يشتمل على مولدات ضد الدفتيريا (D) والتيتانوس (T)، وسعال ديكبي خلوي (aP)، وإنفلونزا مولعة بالدم (Hib)، والتهاب كبدي (Hep)، وفيروس شلل أطفال (IPV)، حيث يتم امتزاز مولدات الضد D و T و aP على فوسفات ألومنيوم ويتم امتزاز مولد ضد Hep على هيدروكسيد ألومنيوم.

15

يوفر الاختراع مولدات ضد الدفتيريا (D) والتيتانوس (T) والسعال الديكي اللا خلوي (aP) ممتزة على فوسفات ألومنيوم فقط وليس على هيدروكسيد ألومنيوم.

وفقاً لصورة ما من الاختراع، فإن مولدات ضد Hib يتم ترافقه مع بروتين حامل يتم اختياره من

بمجموعة تشتمل على شبيهه توكسين تيتانوس (TT)، وشبيهه توكسين دفتيريا (DT)، وCRM197، وبروتين غشاء خارجي لـ *Neisseria meningitides* أو أي مكافئات لها، أو أي حوامل معروفة أخرى.

5 وفقاً لصورة أخرى من الاختراع، فإن مولد ضد Hib لا يمتز بصورة رئيسية على أي مادة مساعدة.

وفقاً لصورة أخرى من الاختراع، فإن مولد ضد Hib في لقاح الاختراع يتم اشتقاقه من عديد سكريات مغلف لسلالة Hibb.

توفر إحدى صور الاختراع مولد ضد Hep يتم امتزازه على هيدروكسيد ألومنيوم وليس على فوسفات ألومنيوم.

10 تتعلق صورة أخرى من الاختراع بمولد ضد Hep يجري اشتقاقه من مولد ضد سطحي التهاب كبدي لـ (HBsAg)؛ أي مولد ضد سطحي لسلالة HepB.

وفقاً لصورة أخرى من الاختراع، فإن سلالات IPV عبارة عن سلالة سولك واحدة أو أكثر يمكن اختيارها من مجموعة من النوع الأول Mahoney، النوع الثاني MEF، والنوع الثالث Saukett أو سلالة سابين واحدة أو أكثر مختارة من مجموعة من الأنواع الأولى والثانية سابين.

15 توفر صورة أخرى من الاختراع لقاحاً للاختراع يشتمل على 2- فينوكسي إيثانول كمادة حافظة في الصيغة.

كذلك تتعلق صورة أخرى للاختراع بعملية لتصنيع لقاحات مشتركة للاختراع.

تتعلق إحدى الصور الأخرى للاختراع بتركيبية لقاحات مشتركة للاختراع بحيث يوجد كل مولد

ضد بكمية في اللقاح بحيث يظهر استجابة مناعية وافية ضد مولد الضد المذكور.

مولدات ضد لقاح الاختراع

الدفتيريا تسببها *Corynebacterium diphtheriae*، وهي عبارة عن بكتيريا هوائية بدون أبواغ سالبة الجرام. يعبر هذا الكائن عن توكسين خارجي يعالج بالريوسيل ADP مرمز بخلايا قبل ملتزمة (توكسين دفتيريا)، والذي يمكن معالجته (على سبيل المثال، باستخدام فورمالدهيد) 5 ليعطي شبيه توكسين. شبيه التوكسين هذا لم يعد ساماً ولكنه يظل مولداً للضد وقادراً على تنشيط إنتاج أجسام مضادة لتوكسين نوعي بعد حقنه. يفضل أن يشتمل مستحضر مولد ضد الدفتيريا المستخدم في لقاح الاختراع على شبيه توكسين الدفتيريا.

التيتانوس تسببه *Clostridium tetani* وهي عبارة عن بكتيريا عضوية مكونة للأبواغ. يعبر هذا الكائن عن إندوبتيداز (توكسين التيتانوس)، والذي يمكن معالجته ليعطي شبيه توكسين لم يعد ساماً بعد الآن. مع ذلك فإنه يظل مولداً للضد وقادراً على تنشيط إنتاج أجسام مضادة لتوكسين نوعي بعد حقنه. يفضل أن يشتمل مستحضر مولد ضد التيتانوس المستخدم في لقاح الاختراع على شبيه توكسين التيتانوس. 10

السعال الديكي تسببه *Bordetella pertussis*. يمكن الحصول على مولدات ضد سعال ديكي لا خلوي (aP) من أي سلالات *Bordetella pertussis* المعروفة. لأغراض الاختراع فإنه يفضل أن يتم الحصول على مولدات ضد aP من سلالة *B. pertussis* Tohama. يمكن استخدام أي أوساط مناسبة لعزل، وزراعة، وتكاثر، وتخميم المزرعة. لأغراض الاختراع فإنه يفضل استخدام Stainer-Scholte معدلة. تشتمل مولدات ضد السعال الديكي اللا خلوي (aP) المستخدمة في اللقاح وفقاً للاختراع الحالي على مولد ضد واحد أو أكثر يتم اختياره من مجموعة من شبيه سم السعال الديكي (PT)، وهيماجلوتينين فتيلي (FHA)، أو بيرتاكين (P69 أو PRN) أو FIM 20

(مولدات ضد هدية 1 أو 2 أو 3). مع ذلك فإنه وفقاً لنموذج مفضل من الاختراع فإن مستحضر مولد ضد aP المستخدم في لقاح الاختراع يشتمل على مولدات ضد PT، وFHA، وPRN (P69).

5 الإنفلونزا المولعة بالدم عبارة عن عصويات كروية سالبة لجرام تسبب أنواع عدوى متفشية يحملها الدم والتهاب سحائي. وفقاً لأحد نماذج الاختراع، فإن مولد ضد Hib، المشتق من عدد سكريات مغلف، يمكن أن يترافق مع أو إقرانه مع بروتينات حاملة. يمكن اختيار البروتينات الحاملة المستخدمة لترافق مولد ضد Hib من مجموعة تشتمل على شبيهه توكسين تيتانوس (TT)، شبيهه توكسين دفتيريا (DT)، CRM197، وبروتين غشاء خارجي لـ *Neisseria meningitidis* أو أي مكافئات لها. تشتمل بروتينات حاملة مناسبة أخرى، على سبيل المثال لا الحصر، بيتيدات تخليقية، بروتينات صدمة حرارية، بروتينات سعال ديكبي، سيتوكينات، ليمفوكينات، هرمونات، عوامل نمو، بروتينات صناعية تشتمل على قمم لاصقة لخلايا CD4+ T بشرية متعددة من مولدات ضد مشتقة من مسببات أمراض مختلفة مثل N19، بروتين D من إنفلونزا مولعة بالدم، بروتين سطحي لمكورات الالتهاب الرئوي PspA، ليسين الالتهاب الرئوي، بروتينات امتصاص الحديد، توكسين A أو B من بروتينات *C.difficile* and *S.agalactiae*. يشتمل مستحضر مولد ضد Hib المستخدم في لقاح الاختراع على مولد ضد Hib ويفضل مترافقاً أو مقترناً مع شبيهه توكسين التيتانوس.

10

15

يمكن تحضير مترافق عديد السكريات بواسطة أي أسلوب إقران معروف. على سبيل المثال يمكن إقران عديد السكريات عن طريق وصلة ثيو إيثر. تعتمد طريقة الترافق هذه على تنشيط عديد السكريات باستخدام 1- سيانو -4- داي ميثيل أمينو بيريدينيوم تترافلور بورات (CDAP) لتكوين إستر سيانات. بذلك يمكن إقران عديد السكريات المنشط مباشرة أو عن طريق مجموعة فاصلة لمجموعة أمينو على البروتين الحامل. يمكن أيضاً تحضير المترافقات بواسطة طرق الأمانة

20

الاختزالية. تشتمل طريقة أخرى على إقران عديد سكريات منشط ببروميد سيانوجين (CNBr) مشتق باستخدام هيدرازيد حمض أدبيك (ADH) مع البروتين الحامل بواسطة تكثيف كربو داي إيميد. يمكن استخدام أي طريقة معروفة أخرى لتحضير مترافق عديد السكريات المستخدم في لقاح الاختراع.

5 وفقاً لنموذج من الاختراع، فإن مولد ضد Hib لا يمتز بشكل رئيسي على أي مادة مساعدة، ويفضل ألا تزيد درجة امتزاز مولد ضد Hib إلى المادة المساعدة عن 15%، ويفضل أكثر ألا تزيد درجة امتزاز مولد ضد Hib إلى المادة المساعدة عن 10%.

وفقاً لنموذج آخر من الاختراع فإنه يتعلق بمولد ضد Hib الذي لا يخضع لتقييد الامتزاز أو امتزاز مستهدف على أي مادة مساعدة.

10 وفقاً لنموذج مفضل آخر من الاختراع فإن مستحضر مولد ضد Hib يشتمل على مولد ضد مشتق من عديد سكريات مغلف من سلالة Hib.

يسبب الالتهاب الكبدي بواسطة سلالات التهاب كبدي مختلفة مثل (أ) أو (ب) أو (ج) أو (د) أو (هـ) أو (و) أو (ز). يعتبر فيروس الالتهاب الكبدي ب (HBV) واحداً من العوامل الرئيسية التي تسبب الالتهاب الكبدي الفيروسي. يتكون فيروس HBV من قلب داخلي محاط بغلاف بروتيني خارجي أو كابسيد المكون الرئيسي للكابسيد عبارة عن بروتين يعرف باعتباره 15 مولد ضد سطحي لفيروس HBV أو أكثر شيوياً باعتباره (HBsAg). عند إعطاء مولد الضد هذا اللقاح فإنه ينشط إنتاج الأجسام المضادة لـ HBsAg التي تقي ضد عدوى HBV. وفقاً لإحدى الصور المفضلة من الاختراع، فإن مستحضر مولد ضد الالتهاب الكبدي (Hep) المستخدم في لقاح الاختراع يشتمل على مولدات ضد Hep مشتقة من مولد ضد سطحي 20 لسلالة الالتهاب الكبدي ب (HBsAg).

لتصنيع اللقاح، فإنه يمكن صنع HBsAg إما بواسطة تنقية مولد الضد في صورة دقائقية من بلازما حوامل التهاب كبدي ب مزمن، حيث يتم تخليق كميات كبيرة من HBsAg في الكبد وإطلاقها في تيار الدم أثناء العدوى بواسطة HBV أو بواسطة التعبير عن البروتين بواسطة طرق DNA ناتج معاودة الارتباط. يمكن تحضير HBsAg لاستخدامه في لقاح الاختراع بواسطة أي من الطريقتين. 5

يسبب شلل الأطفال فيروسات شلل الأطفال. يمكن أن يشتمل لقاح الاختراع على سلالات سابين (سابين 1 و/أو سابين 2) أو سلالات سولك لشلل الأطفال. وفقاً لأحد النماذج المفضلة من الاختراع، فإن لقاح الاختراع يشتمل على سلالات سولك. توجد ثلاثة أنواع من سلالات سولك يمكن أن تسبب شلل الأطفال. تعد الثلاثة أنواع متشابهة وتسبب أعراضاً متطابقة، ولكنها تختلف جداً كمولدات ضد والعدوى بواسطة أحد الأنواع لا تقي ضد العدوى بواسطة الآخرين. يشتمل فيروس شلل الأطفال سولك على ثلاث سلالات النوع الأول (على سبيل المثال سلالة Mahoney)، النوع الثاني من فيروس شلل الأطفال (على سبيل المثال سلالة MEF-1)، والنوع الثالث من فيروس شلل الأطفال (على سبيل المثال، سلالة Saukett). وفقاً لنموذج مفضل من الاختراع، فإن لقاح الاختراع قد يشتمل على سلالة سولك المذكورة واحدة أو أكثر. 10 15

يمكن نمو فيروسات شلل الأطفال في مزرعة خلايا. سلالة خلايا Vero، وهي عبارة عن سلالة خلايا مستمرة مشتقة من كلية قرد، يمكن استخدامها لنمو فيروسات شلل الأطفال. بعد النمو، يمكن تنقية الفيروسات باستخدام أساليب معروفة من قبل. يمكن إخماد فعالية الفيروسات. يتم عادة التعبير عن كميات من فيروس شلل الأطفال في وحدة "DU" (وحدة مولد الضد D). يفضل أن يتم تحضير مستحضر مولد ضد IPV المستخدم في تصنيع لقاح الاختراع بحيث يشتمل على سلالة واحدة أو أكثر يتم استخدامها في تصنيع اللقاح. بعد ذلك 20

يتم استخدام هذا المستحضر السائب لصياغة لقاح الاختراع.

مكونات اللقاح غير المولدة للضد

جنباً إلى جنب المكونات المولدة للضد فإن اللقاح قد يشمل على عدد من المكونات غير المولدة للضد وهي عبارة عن سواغات مقبولة صيدلانياً. تشمل هذه على سبيل المثال لا الحصر معدلات رقم هيدروجيني، منظمات للرقم الهيدروجيني، مواد مساعدة، مواد حافظة، عوامل 5
حاملة ومعدلة للتوتر السطحي.

المواد المساعدة

يمكن امتزاز مولدات ضد الصيغة النهائية على مادة مساعدة أو عدم امتزازها. تعمل المادة المساعدة على تنشيط إنتاج المناعة ضد مكونات اللقاح، مما يجعل اللقاح أكثر فعالية.

10 قد تعمل المواد المساعدة على:

- جعل مولد الضد يتلامس مع الجهاز المناعي ويؤثر على نوع المناعة المنتجة، بالإضافة إلى جودة الاستجابة المناعية (المقدار أو الاستمرار)؛
- تقليل سمية مولدات ضد معينة؛
- توفير قابلية ذوبان لبعض مكونات اللقاحات.

15 أوضحت الدراسات أن الكثير من اللقاحات المحتوية على ألومنيوم تسبب استجابات جسم مضاد أعلى وأكثر امتداداً من اللقاحات المناظرة بدون مادة مساعدة. لوحظت عادة فائدة المادة المساعدة أثناء سلسلة التحصين الأولية فضلاً عن الجرعات المعززة.

المواد المساعدة التي أساسها الألومنيوم هي أكثر المواد المساعدة المستخدمة شيوعاً. لقد صدقت

أيضاً FDA على استخدام هذه المواد المساعدة في اللقاحات. يوجد ثلاثة أنواع عامة من المواد المساعدة المحتوية على ألومنيوم:

- هيدروكسيد ألومنيوم
- فوسفات ألومنيوم
- كبريتات الألومنيوم والبوتاسيوم (تسمى أيضاً بالشبه).

يتعلق أحد نماذج الاختراع بمولدات ضد معينة للقاح يتم امتزاجها على فوسفات ألومنيوم ومولدات ضد معينة للقاح يتم امتزاجها على هيدروكسيد ألومنيوم. يمكن امتزاج مولدات ضد معينة على فوسفات ألومنيوم فقط وليس على هيدروكسيد ألومنيوم وبالعكس. لا يمكن امتزاج مولدات ضد معينة للاختراع مطلقاً أو بشكل رئيسي على أي مادة مساعدة. أفضلية المادة المساعدة لامتزاج مولدات الضد المذكورة تعطي لقاح الاختراع خصائصه. تم ذكر أفضلية الامتزاج بمزيد من التفصيل في القسم "عملية لتصنيع لقاح الاختراع" اللاحق.

المواد الحافظة

اللقاحات عرضة للتلوث بواسطة البكتيريا. بذلك، فإنه لتفادي التلوث المحتمل المهديد للحياة بواسطة ميكروبات ضارة التي يمكن أن تدخل في لقاح يتضمنها أثناء حدوث التلوث العارض، فإنه يمكن تضمين مادة حافظة في تركيبة اللقاح أثناء صياغته. تشمل المواد الحافظة التي تم استخدامها كلوريد بنزثينيوم (فيميرول)، ثيوميرسال، فينول، و2- فينوكسي إيثانول (2-POE).

ثيوميرسال عبارة عن مركب عضوي يحتوي على الزئبق (زئبقي عضوي) تم استخدامه في لقاحات كثيرة كمادة حافظة. توجد تقارير تنتمي إلى تفاعلات تحسسية معينة لثيوميرسال بشكل رئيسي في صورة تفاعلات فرط حساسية موضعية من النوع المتأخر تشمل إحمراً، وتورم

موضع الحقن. توجد أيضاً تقارير متضاربة على التوحد ذي الصلة بالزئبق.

2- فينوكسي إيثانول (2- POE) يعرف أيضاً بـ "1- هيدروكسي -2- فينوكسي إيثان"، "2- هيدروكسي إيثيل فينيل إيثر"، "إيثيلين جليكول فينيل إيثر"، الخ يعتبر تدرج أمان 2- فينوكسي إيثانول أفضل من المواد الحافظة الزئبقية (مثل ثيوميرسال). بذلك توجد حاجة لتفادي ثيوميرسال واستخدام 2- فينوكسي إيثانول في اللقاحات.

5

بذلك، فإن نموذج مفضل آخر للاختراع يتعلق باستخدام 2- فينوكسي إيثانول كمادة حافظة في تركيبة اللقاح. وفقاً لنموذج مفضل آخر للاختراع، فإن تركيز 2- فينوكسي إيثانول عبارة عن 5 مجم/مل من اللقاح.

عوامل معدلة للتوتر السطحي

10 للتحكم في التوتر السطحي لتركيب اللقاح، فإنه يفضل أن يشتمل على عامل معدل للتوتر السطحي في صيغة اللقاح. تشمل هذه العوامل على سبيل المثال لا الحصر أملاح (أمثلة NaCl، MgCl₂، KCl، CaCl₂)، سكريات (أمثلة، ديكتروز، مانيتول، لاکتوز)، أحماض أمينية (أمثلة، أرجينين، جليسين، هيسثيدين)، وكحولات عديدة الهيدروكسيل (أمثلة - سكروز - جليسرول، سوربيتول). في نموذج مفضل أكثر، يتم استخدام ملح فسيولوجي مثل ملح

15 صوديومي في صياغة اللقاح. يعد كلوريد الصوديوم (NaCl) الأفضل الذي يتم تضمينه في تركيبة لقاح الاختراع.

المعدلات و/أو المواد المنظمة للرقم الهيدروجيني

يمكن استخدام معدلات رقم هيدروجيني مختلفة معلومة لدى الشخص الماهر في هذا المجال لضبط الرقم الهيدروجيني للقاح حسب الطلب، مثل هيدروكسيد صوديوم أو حمض

هيدروكلوريك. يمكن استخدام مواد منظمة للرقم الهيدروجيني مختلفة مثل فوسفات الصوديوم، وفوسفات البوتاسيوم، والمواد المنظمة بالسترات في صياغة اللقاح.

تركيب لقاح الاختراع

5 تركيب لقاح الاختراع يكون بحيث يتم جعل لقاح الاختراع مولدًا للمناعة بتأثير كميات كل من مولدات الضد الموجودة في اللقاح. يفضل أن يكون كل مولد ضد في لقاح الاختراع بكميات بحيث يظهر اللقاح المشترك عند إعطائه لخاضع استجابة مناعية في الخاضع، ضد مولد الضد المذكور للتركيبة.

10 وفقاً لأحد نماذج الاختراع، فإن لقاح خماسي التكافؤ سائل بالكامل يشتمل على D و T و aP (PT، FHA، PRN)، و Hibb، و IPV (النوع الأول Mahoney، النوع الثاني MEF، والنوع الثالث Saukett)، حيث يوجد D بكمية حوالي 1-40 Lf و T يوجد بكمية حوالي 1-25 Lf، و PT يوجد بكمية حوالي 1-40 ميكروجرام، و FHA يوجد بكمية حوالي 1-15 ميكروجرام/ 0.5 مل، و Hibb يوجد بكمية حوالي 1-20 ميكروجرام/ 0.5 مل، وتوجد سلالات النوع الأول Mahoney، والنوع الثاني MEF والنوع الثالث Saukett بكمية حوالي 1-50 DU، و 1-15 DU، و 1-50 DU، على التوالي/ 0.5 مل، لتعطي لقاحاً مشتركاً مولد للمناعة وثابت. 15

وفقاً لأحد النماذج المفضلة، فإن اللقاح خماسي التكافؤ السائل بالكامل يشتمل على D و T و aP (PT، FHA، PRN)، و Hibb و IPV حيث D يوجد بكمية حوالي 1-25 Lf، و T يوجد بكمية حوالي 1-10 Lf، و PT يوجد بكمية حوالي 1-25 ميكروجرام، و FHA يوجد بكمية حوالي 1-25 ميكروجرام و PRN يوجد بكمية 8 ميكروجرام/ 0.5 مل، و Hibb بكمية حوالي 10 ميكروجرام/ 0.5 مل، وتوجد سلالات النوع الأول Mahoney، والنوع الثاني MEF، والنوع 20

الثالث Saukett بكمية حوالي 40 DU و DUA و 32 DU على التوالي لكل 0.5 مل، بحيث يكون اللقاح المذكور عبارة عن تركيبة ثابتة ومولداً للمناعة عند إعطائه لخاضع.

يوفر نموذج آخر من الاختراع، فإن لقاح خماسي التكافؤ سائل بالكامل يشتمل على D و T و aP (PRN، FHA، PT)، Hib، و HepB، و IPV حيث D يوجد بكمية حوالي 25 Lf، و T يوجد بكمية حوالي 10 Lf، و PT يوجد بكمية حوالي 25 ميكروجرام، و FHA يوجد بكمية حوالي 25 ميكروجرام و PRN يوجد بكمية 8 ميكروجرام / 0.5 مل، و يوجد Hib بكمية حوالي 10 ميكروجرام / 0.5 مل، و يوجد HepB بكمية حوالي 1-25 ميكروجرام لكل 0.5 مل، وتوجد سلالات النوع الأول Mahoney، والنوع الثاني MEF، والنوع الثالث Saukett بكمية حوالي 40 DU و DUA و 32 DU على التوالي لكل 0.5 مل، بحيث يكون اللقاح المشترك ثابتاً ومولداً للمناعة عند إعطائه لخاضع. 10

وفقاً لنموذج مفضل آخر من الاختراع فإن لقاح خماسي التكافؤ سائل بالكامل يشتمل على D و T و aP (PRN، FHA، PT)، Hib و HepB، و IPV حيث D يوجد بكمية حوالي 25 Lf، و T يوجد بكمية حوالي 10 Lf، و PT يوجد بكمية حوالي 25 ميكروجرام، و FHA يوجد بكمية حوالي 25 ميكروجرام و PRN يوجد بكمية 8 ميكروجرام / 0.5 مل، و يوجد Hib بكمية حوالي 10 ميكروجرام / 0.5 مل، و يوجد HepB بكمية حوالي 10 ميكروجرام / 0.5 مل، وتوجد سلالات النوع الأول Mahoney، والنوع الثاني MEF، والنوع الثالث Saukett بكمية حوالي 40 DU و DUA و 32 DU على التوالي لكل 0.5 مل، بحيث يكون اللقاح المذكور عبارة عن تركيبة ثابتة ومولداً للمناعة عند إعطائه لخاضع. 15

يتعلق أيضاً باختراع بطريقة حث استجابة مناعية في أي مولد ضد مختار من مجموعة D أو T أو P أو Hib أو Hep أو IPV تشتمل على إعطاء كمية فعالة مناعياً من لقاح الاختراع. 20

وفقاً لصورة أخرى من الاختراع فإن محتوى الألومنيوم (Al^{+3}) في لقاح الاختراع، يفضل ألا يزيد عن 2 مجم / 0.5 مل، ويفضل أكثر 1 مجم / 0.5 مل، والأفضل 0.8 مجم / 0.5 مل.

وفقاً لصورة أخرى من الاختراع فإن الكمية المفضلة من 2- فينوكسي إيثانول في اللقاح المشترك للاختراع قد تكون 5 مجم / مل.

5 عملية لتصنيع لقاح الاختراع

تتعلق إحدى صور الاختراع بعملية لتصنيع لقاح الاختراع. قد يعتمد تولد المناعة، والثبات، والحفاظ على الصورة الصحيحة لمولدات الضد في التركيبة المولدة للمناعة على طريقة صياغة التركيبة. قد يشمل هذا سلسلة إضافة لمولدات الضد، واستخدام مواد مساعدة نوعية لمولدات ضد معينة، واستخدام باراميترات مختلفة تشمل التقليل، ودرجة الحرارة، والرقم الهيدروجيني.

10 يتعلق أحد نماذج الاختراع بعملية لتصنيع لقاح خماسي التكافؤ ثابت سائل بالكامل يشتمل على مولدات ضد الدفتيريا (D)، والتيتانوس (T)، والسعال الديكي اللا خلوي (aP)، والإنفلونزا المولعة بالدم (Hib)، وIPV تشتمل على الخطوات:

(أ) تحضير مكون I يشتمل على مولدات ضد (1) دفتيريا (D) (2) تيتانوس (T)، (3) سعال ديكي لا خلوي (aP).

15 (ب) إضافة المكون I إلى مستحضر مولد ضد إنفلونزا مولعة بالدم (Hib) للحصول على خليط.

(ج) إضافة الخليط السابق إلى مولدات ضد فيروس شلل الأطفال (IPV).

بشرط أن Hib لا يتم امتزازه بشكل رئيسي على أي مادة مساعدة.

وفقاً لإحدى النماذج المفضلة من الاختراع فإن مولدات الضد D و T و aP يتم امتزاجها على فوسفات ألومنيوم.

يتعلق أحد نماذج الاختراع بتحضير المكون I والذي يشتمل على الخطوات التالية:

(أ) نقل مستحضرات مولدات ضد الدفتيريا والتيتانوس جنباً إلى جنب مع جل فوسفات ألومنيوم، ومحلول ملحي، و 2- فينوكسي إيثانول (POE-2) في وعاء، 5

(ب) نقل مستحضرات مولدات ضد PT و FHA و PRN تحت التقليب إلى الوعاء السابق للحصول على خليط،

(ج) إضافة محلول ملحي و 2- POE إلى الوعاء المذكور، وفحص الرقم الهيدروجيني للخليط السابق، وضبطه ليتراوح بين 6.0 و 7.0.

10 تتعلق أيضاً العملية بخلط مولدات الضد Hib و IPV مع المكون I للقاح الاختراع والتي تشتمل أيضاً على خطوة نقل الخليط السابق المشكل على مولدات الضد D و T و aP إلى مستحضر مولد الضد Hib للحصول على خليط آخر وبعد ذلك خلط هذا الخليط مع مستحضر مولد الضد SPV، وفحص الرقم الهيدروجيني، وضبطه ليتراوح بين 6.0 و 7.0.

15 يتعلق أيضاً الاختراع بنموذج مفضل آخر للاختراع يوفر عملية لتصنيع لقاح سداسي التكافؤ ثابت سائل بالكامل يشتمل على مولدات ضد الدفتيريا (D)، والتيتانوس (T)، والسعال الديكي اللا خلوي (aP)، وإنفلونزا مولعة بالدم (Hib)، التهاب كبدي، و IPV تشتمل على الخطوات:

(أ) تحضير مكون I يشتمل على مولدات ضد (1) الدفتيريا (D)، (2) التيتانوس (T)، و (3) السعال الديكي اللا خلوي (aP).

-28-

(ب) تحضير مكون II يشتمل على مولد ضد التهاب كبدي (Hep).

(ج) تجميع المكونات I و II لتكوين خليط.

(د) إضافة الخليط السابق إلى مولدات ضد Hib و IPV.

بشرط أنه قد تم امتزاز مولدات الضد D و T و aP على فوسفات ألومنيوم وأنه تم امتزاز مولد ضد Hep على هيدروكسيد ألومنيوم. 5

وفقاً لصورة مفضلة أخرى من الاختراع فإن تحضير المكون I يشتمل على الخطوات التالية:

(أ) نقل مستحضرات مولدات ضد الدفتيريا والتيتانوس جنباً إلى جنب مع جل فوسفات ألومنيوم، ومحلول ملحي، و-2 فينوكسي إيثانول (POE-2) في وعاء،

(ب) نقل مستحضرات مولدات ضد PT و FHA و PRN تحت التقليب إلى الوعاء السابق للحصول على خليط، 10

(ج) إضافة محلول ملحي و-2 POE إلى الوعاء المذكور، وفحص الرقم الهيدروجيني للخليط السابق، وضبطه ليتراوح بين 6.0 و 7.0.

تشتمل أيضاً العملية على تحضير المكون II للقاح الاختراع وهي تتكون من الخطوات التالية:

(أ) نقل جل هيدروكسيد الألومنيوم إلى وعاء،

(ب) نقل مستحضر مولد ضد Hep إلى الوعاء، 15

(ج) إضافة مستحضر محلول ملحي و-2 POE تحت التقليب، وفحص الرقم الهيدروجيني، وضبطه ليتراوح بين 6.0 و 7.0.

تتعلق أيضاً العملية بخلط المكونين I و II للقاح الاختراع، وتشتمل على خطوة نقل محتويات المكون II إلى المكون I للحصول على خليط.

تتضمن أيضاً العملية على خلط مولدات ضد Hib و IPV مع الخليط المتحصل عليه السابق، وتشتمل على خطوات خلط الخليط السابق المذكور مع مستحضر مولد ضد Hib للحصول على خليط آخر والخلط مرة أخرى لهذا الخليط مع مستحضر مولد ضد IPV، وفحص الرقم الهيدروجيني، وضبطه ليتراوح بين 6.0 و 7.0.

وفقاً لأحد النماذج المفضلة للاختراع فإنه يتم إجراء التقليب كما ذكر في أي من الخطوات السابقة عند 150 دورة/ دقيقة، عند $25 \pm 2^\circ\text{C}$ لحوالي 2 دقيقة إلى 2 ساعة.

يتم استخدام الأمثلة السابقة لمزيد من توضيح الاختراع الحالي ومميزاته. تم إعطاء الأمثلة النوعية التالية بمفهوم أنها للتوضيح وليست قيداً على مجال الاختراع الحالي.

مثال (1)

يعطي هذا المثال تركيب وعملية تصنيع لقاح خماسي التكافؤ وفقاً لإحدى صور الاختراع

[1] تركيب لقاح خماسي التكافؤ وفقاً للاختراع كل 0.5 مل من اللقاح تشتمل على الآتي:

جدول (1):

المكونات	الكمية
شبيهة توكسين دفتيريا ¹ (DT)	Lf 25
شبيهة توكسين تيتانوس ¹ (TT)	Lf 10
سعال ديكي لا خلوي ¹ (aP)	
شبيهة توكسين سعال ديكي (PT)	25 ميكروجرام
هيما جلوتينين فتيلي (FHA)	25 ميكروجرام

بيرتاكتين (PRN)	8 ميكروجرام
مولد ضد إنفلونزا مولعة بالدم (Hib)b (عديد سكريات مغلف)	10 ميكروجرام
فيروس شلل أطفال محمد الفعالية (IPV)	
نوع أول شلل أطفال	40 وحدة D
نوع ثان شلل أطفال	8 وحدات D
نوع ثالث شلل أطفال	32 وحدة D
مكونات أخرى	
محتوى الألومنيوم	0.60 مجم من Al^{+3} (مثل فوسفات ألومنيوم)
2- فينوكسي إيثانول	2.5 مجم
محلول ملح	كمية كافية

¹ على فوسفات ألومنيوم

q.s - كمية كافية

[ب] عملية تصنيع لقاح خماسي التكافؤ وفقاً للاختراع

1- إجراء صياغة للمكون I

5 تم نقل مستحضرات مولد ضد الدفتيريا والتيتانوس جنباً إلى جنب مع جل فوسفات الألومنيوم ومحلول ملحي و2- POE إلى وعاء ثم تبعه نقل مستحضرات مولدات ضد PT، FHA، وPRN. تم خلط المزيد من محلول ملحي و2- فينوكسي إيثانول (2-POE) مع الخليط في الوعاء المذكور السابق، تم فحص الرقم الهيدروجيني، وضبطه ليتراوح بين 6.0 و7.0.

2- إضافة Hib و IPV سائب

تم خلط محتويات المكون I مع مستحضر مولد ضد Hib للحصول على خليط آخر والذي بعد ذلك تم خلطه مع مستحضر مولد ضد IPV تحت التقليب، للحصول على لقاح خماسي التكافؤ. تم فحص الرقم الهيدروجيني وضبطه ليتراوح بين 6.0 و7.0.

مثال (2)

يعطي هذا المثال تركيب وعملية تصنيع لقاح سداسي التكافؤ وفقاً لإحدى صور الاختراع

5

[أ] تركيب لقاح سداسي التكافؤ وفقاً للاختراع:

كل 0.5 مل لقاح تشتمل على الآتي:

جدول (2)

المكونات	الكمية
شبيه توكسين دفتيريا ¹ (DT)	Lf 25
شبيه توكسين تيتانوس ¹ (TT)	Lf 10
سعال ديكي لا خلوي ¹ (aP)	
شبيه توكسين سعال ديكي (PT)	25 ميكروجرام
هيما جلوتينين فتيلي (FHA)	25 ميكروجرام
بيرتاكتين (PRN)	8 ميكروجرام
إنفلونزا مولعة بالدم (Hib)b مولد ضد (عديد سكريات مغلف)	10 ميكروجرام
مولد ضد سطحي التهاب كبدي ب (Hep) ² (HBsAg)	10 ميكروجرام
فيروس شلل أطفال مخمد الفعالية (IPV)	
نوع أول شلل أطفال	40 وحدة D
نوع ثان شلل أطفال	8 وحدات D

نوع ثالث شلل أطفال	32 وحدة D
مكونات أخرى	
محتوى الألومنيوم	0.60 مجم من Al^{3+} (مثل فوسفات ألومنيوم)
2- فينوكسي إيثانول	2.5 مجم
	0.20 مجم من Al^{3+} (كهيدروكسيد ألومنيوم)
محلول ملح	كمية كافية

¹ على فوسفات ألومنيوم

² على هيدروكسيد ألومنيوم

q.s - كمية كافية

[ب] إجراء صياغة المكون I

5 تم نقل مستحضرات مولد ضد الدفتيريا والتيتانوس جنباً إلى جنب مع جل فوسفات الألومنيوم ومحلول ملحي و2- POE إلى وعاء ثم تبعه نقل مستحضرات مولدات ضد PT، FHA، وPRN. تم خلط المزيد من محلول ملحي و2- فينوكسي إيثانول (2-POE) مع الخليط في الوعاء المذكور السابق، تم فحص الرقم الهيدروجيني، وضبطه ليتراوح بين 6.0 و7.0.

2- إجراء صياغة المكون II

10 تم سحب جل هيدروكسيد الألومنيوم في وعاء. تم خلط مستحضر مولد ضد HepB للحصول على خليط. تم خلط المزيد من مستحضر محلول ملحي و2-POE مع الخليط المذكور المشتمل على مولد ضد HepB، وتم فحص الرقم الهيدروجيني، وضبطه ليتراوح بين 6.0 و7.0.

3- خلط المكونين I و II

تم إجراء هذه الخطوة بنقل محتويات المكون II إلى المكون I للحصول على خليط.

4- إضافة Hibb و IPV سائب

تم خلط الخليط السابق المشتمل على المكونين I و II مع مستحضر مولد ضد Hibb للحصول على خليط آخر تم بعد ذلك خلطه مع مستحضر مولد ضد IPV تحت التقليب، للحصول على لقاح سداسي التكافؤ. تم فحص الرقم الهيدروجيني وضبطه لكي يتراوح بين 6.0 و 7.0.

مثال (3)

يعطي هذا المثال ملخصاً بشأن اختبار الفعالية في الكائن الحي الذي تم إجراؤه بالنسبة لمولدات ضد الدفتيريا، التيتانوس، السعال الديكي للخلية الكاملة، الإنفلونزا المولعة بالدم نوع (Hib)b، الالتهاب الكبدي ب، وشلل الأطفال مخمد الفعالية وبيانات الثبات أو الفعالية لها.

[1] اختبار الفعالية في الكائن الحي الذي تم إجراؤه بالنسبة لمولدات ضد الدفتيريا، التيتانوس، السعال الديكي للخلية الكاملة، إنفلونزا مولعة بالدم نوع (Hib)b، الالتهاب الكبدي ب، وشلل الأطفال مخمد الفعالية

15 1- شبيه توكسين الدفتيريا

خنازير هندية

أنواع الحيوانات المطلوبة:

116 (48 للاختبار، 48 مرجعي و 20

عدد الحيوانات المطلوبة لدفعة واحدة:

ل (LD₅₀)

تحت الجلد

مسار إعطاء اللقاح:

-34-

حجم الحقن: 1.0 مل
عدد أيام إيواء الحيوان: 28

تم تحديد فعالية شبه توكسين الدفتيريا في الخنازير الهندية بواسطة طريقة التجربة المميتة. في هذه الطريقة، تم تحضير ثلاثة تخفيفات لكل من اللقاح المختبر واللقاح المرجعي بحيث يحتوي التخفيف الأوسط على جرعة ED₅₀ تنفذ 50% على الأقل أو أكثر من الحيوانات المختبرة. تم تلقيح ستة عشر خنزيراً هندياً لكل تخفيف من اللقاح المختبر واللقاح المرجعي وبعد 28 يوم تم اختبار الحيوانات المختبرة تحت الجلد بتوكسين دفتيريا يحتوي LD₅₀ 100. تم إبقاء مجموعة من 20 خنزير هندي غير محصن لمعايرة توكسين الدفتيريا، وتم تلقيح هذه المجموعة من الخنازير الهندية باستخدام تخفيفات مختلفة من توكسين الدفتيريا، بواقع 5 خنازير هندي لكل تخفيف. تم الانتهاء من الاختبار في 33 يوم. تم إجراء المزيد من الحسابات باستخدام PROBIT. العينة تعتبر اجتازت اختبار فعالية الدفتيريا إذا احتوت على $30 \leq$ وحدة دولية/ جرعة بشرية واحدة.

- 10 - يجب أن يفى اللقاح المختبر بالخطية والتوازي مع اللقاح المرجعي.
- يجب أن تقع النهاية الوثوقية للفعالية المقدرة بين 50 و 200%.
- يجب ألا تقل الفعالية المقدرة عن 30 وحدة دولية لكل جرعة بشرية واحدة.
- يجب أن تكون نهاية فترة الثقة 95% لتقدير الفعالية بين 50 و 200% ما لم تكون النهاية الصغرى لفترة الثقة 95% للفعالية المقدرة أكبر من 30 وحدة دولية لكل جرعة.
- 15

2- شبه توكسين التيتانوس

أنواع الحيوانات المطلوبة: فأر ألبينو سويسري
عدد الحيوانات المطلوبة لدفعة واحدة: 116 (48 للاختبار، 48 مرجعي و 20

-35-

ل (LD ₅₀)	
تحت الجلد	مسار إعطاء اللقاح:
0.5 مل	حجم الحقن:
28	عدد أيام إيواء الحيوان:

تم تحديد فعالية شبه توكسين التيتانوس في الفئران السويسرية بواسطة طريقة التجربة المميتة. في هذه الطريقة، تم تحضير ثلاثة تخفيفات لكل من اللقاح المختبر واللقاح المرجعي بحيث يحتوي التخفيف الأوسط على جرعة ED₅₀ تنفذ 50% على الأقل أو أكثر من الحيوانات المختبرة. تم تلقيح ستة عشر فأراً سويسرياً لكل تخفيف من اللقاح المختبر واللقاح المرجعي وبعد 28 يوم تم اختبار الحيوانات المختبرة تحت الجلد بتوكسين تيتانوس يحتوي LD₅₀ 100. تم إبقاء مجموعة من 5 20 فأر سويسري غير محصن لمعايرة توكسين التيتانوس، وتم تلقيح هذه المجموعة من الفئران السويسرية باستخدام تخفيفات مختلفة من توكسين التيتانوس، بواقع 5 فئران سويسرية لكل تخفيف. تم الانتهاء من الاختبار في 33 يوم. تم إجراء المزيد من الحسابات باستخدام PROBIT. العينة تعتبر اجتازت اختبار فعالية التيتانوس إذا احتوت على ≤ 60 وحدة دولية/جرعة بشرية واحدة. 10

- يجب أن يفي اللقاح المختبر بالخطية والتوازي مع اللقاح المرجعي.
- يجب أن تقع النهاية الوثوقية للفعالية المقدرة بين 50 و200%.
- يجب ألا تقل الفعالية المقدرة عن 60 وحدة دولية لكل جرعة بشرية واحدة.
- يجب أن تكون نهاية فترة الثقة 95% لتقدير الفعالية بين 50 و200% ما لم تكون النهاية الصغرى لفترة الثقة 95% للفعالية المقدرة أكبر من 60 وحدة دولية لكل جرعة.

15

3- مولد ضد سعال ديكى لا خلوي (aP)

فئران سويسرية	أنواع الحيوانات المطلوبة:
24	عدد الحيوانات المطلوبة لدفعة واحدة:
تحت الجلد	مسار إعطاء اللقاح:
0.5 مل	حجم الحقن:
35	عدد أيام إيواء الحيوان:

تم تحديد فعالية مولد ضد aP في الفئران السويسرية بواسطة طريقة ELISA. تم عمل ثلاثة تخفيفات من اللقاح المختبر (صافي، 1: 5، 1: 25). تم اختبار ثلاث مجموعات كل منها من 8 فئران سويسرية وتم تحصين كل مجموعة بواسطة تخفيفاتها المناظرة. تم حقن كل فرد من المجموعة المختبرة تحت الجلد بواسطة 0.5 مل من اللقاحات المخففة. تم إجراء تجميع دم نهائي في اليوم الخامس والثلاثين. تم اختبار عينات المصل لتحديد الجسم المضاد ل Hib بواسطة طريقة ELISA. تعتبر العينة اجتازت اختبار فعالية aP إذا تحو مصلياً $\leq 70\%$ من الفئران في المجموعة المختبرة.

4- مولد ضد الإنفلونزا المولعة بالدم نوع ب

فئران سويسرية	أنواع الحيوانات المطلوبة:
116 (8) للتحصين، و 8 تعمل كمقارنة)	عدد الحيوانات المطلوبة لدفعة واحدة:
تحت الجلد	مسار إعطاء اللقاح:
0.5 مل	حجم الحقن:
35	عدد أيام إيواء الحيوان:

تم إجراء اختبار فعالية مولد ضد Hib b في فئران سويسرية بواسطة طريقة ELISA. في هذا

الاختبار تم اختيار مجموعتين مختبرتين (مجموعة مختبرة ومجموعة مقارنة) كل منها من 8 فئران سويسرية. تم حقن كل فأر من المجموعة المختبرة تحت الجلد بواسطة 0.5 مل من لقاحات مخففة بنسبة 1:4 وتركت مجموعة المقارنة غير ملقحة. تم إعطاء جرعة معززة في اليومين العاشر والعشرين وتم تجميع الدم النهائي في اليوم الخامس والثلاثين. تم اختبار عينات المصل لتحديد الجسم المضاد ل Hib بواسطة طريقة ELISA. تعتبر العينة اجتازت اختبار فعالية Hib إذا تحول مصلياً $\leq 50\%$ من الفئران في مجموعة الاختبار.

5- مولد ضد سطحي التهاب كبدي ب

أنواع الحيوانات المطلوبة:	فئران Bal b/c
عدد الحيوانات المطلوبة لدفعة واحدة:	110 (50 للعينة) 50 مرجعي (10 إرضائي).
مسار إعطاء اللقاح:	في البريتون
حجم الحقن:	1.0 مل
عدد أيام إيواء الحيوان:	28

تم إجراء اختبار فعالية مولد ضد سطحي التهاب كبدي ب في فئران Bal b/c. في هذا الاختبار تم تحضير خمسة تخفيفات ضعفين لكل من اللقاح المرجعي واللقاح المختبر وتم تلقيح عشرة فئران في البريتون لكل تخفيف. تم تلقيح عشرة فئران بواسطة المادة المخففة وعملت كعينة تلقت جرعة إرضائية. تم استنزاف الفئران الملقحة في اليوم 28 من التلقيح وتم فصل المصل مع أخذ الحيلة ألا يحدث تحلل دموي. تم اختبار عينات المصل لتحديد عيار الجسم المضاد للالتهاب الكبدي ب بواسطة ELISA. تعتبر العينة اجتازت اختبار فعالية الالتهاب الكبدي ب إذا كانت النهاية العليا لفعالية النسبية ≤ 1 .

6- لقاح شلل أطفال مخمد الفعالية (IPV)

أنواع الحيوانات المطلوبة:	جرذان ويستار
عدد الحيوانات المطلوبة لدفعة واحدة:	100 (50 للقاح المختبر، و50 للقاح المرجعي)
مسار إعطاء اللقاح:	في العضل
حجم الحقن:	0.5 مل
عدد أيام إيواء الحيوان:	21

تم إجراء اختبار فعالية IPV في جرذان RIVM TOX. تم تحضير خمسة تخفيفات ثلاثة أضعاف من اللقاح المرجعي واللقاح المختبر وتم حقن عشرة جرذان في العضل بواسطة 0.5 مل من كل تخفيف. تم استنزاف الحيوانات المختبرة في اليوم 21 بعد تحصينها وتم تجميع عينات المصل بمحذر لتجنب تحلل كرات الدم الحمراء. تم اختبار كل عينة مصلى لتحديد عيار الجسم المضاد للأنواع المصلية الأولى والثانية والثالثة من فيروس شلل الأطفال بواسطة اختبار معادلة المصل.

الاختبار غير ساري إلا إذا:

- وقع متوسط الجرعة الفعالة (ED_{50}) لكل من اللقاحات المختبرة والمرجعية بين أصغر وأكبر جرعتين تم إعطاؤهما للحيوانات؛
- أوضح التحليل الإحصائي عدم وجود انحراف كبير عن الخطية أو التوازي؛
- النهايات الموثوقة للفعالية النسبية المقدرة تقع بين 25% و400% من الفعالية المقدرة.

[ب] بيانات الثبات أو فعالية مولدات الضد في لقاح الاختراع

تم إجراء الاختبارات كما هو متبع في مثال (3) [أ] لجميع مولدات الضد الخاصة باللقاح

سداسي التكافؤ لمثال (2). تم إدراج النتائج في الجدول اللاحق.

جدول (3)

دراسة طويلة المدى (3 ± 5 م)	الحدود المقبولة	المكونات	رقم مسلسل
6 شهور			
%100	$\leq 70\%$	سعال ديكلي لا خلوي (aP) (فعالية)	1
%100	$\leq 50\%$	مولدات ضد Hib b (عديد سكريات مغلف (فعالية)	2
1.18	≤ 10	مولد ضد التهاب كبدي (HBSAg) (Hep)B (فعالية)	3
استجاب	يجب ألا تقل فعالية اللقاح المختبر عن اللقاح المرجعي	نوع 1	4 فيروس شلل أطفال محمد الفعالية (IPV) (فعالية)
استجاب		نوع 2	
استجاب		نوع 3	

بذلك فإنه يمكن مشاهدة أنه حتى بعد التخزين لمدة طويلة للقاح عند $5 \pm 3^\circ\text{C}$ ، فإن مولدات
الضد الخاصة باللقاح لازالت فعالة/ ولها تولد مناعة فوق الحدود المقبولة.

عناصر الحماية

- 1- 1 لقاح مشترك ثابت سائل بالكامل يشتمل على مولدات ضد دفتيريا (D)،
2 وتيتانوس (T)، وسعال ديكبي لا خلوي (aP)، وإنفلونزا مولعة بالدم (Hib)،
3 وفيروس شلل أطفال، حيث لا يتم امتزاز Hib بشكل رئيسي على أي مادة
4 مساعدة.
- 2- 1 لقاح وفقاً لعنصر الحماية (1)، حيث يتم ترافق Hib مع بروتين حامل مختار
2 من مجموعة تشتمل على شبيه توكسين تيتانوس، شبيه توكسين دفتيريا، CRM
3 197، وبروتين غشاء خارجي لـ *Neisseria meningitides* أو أي مكافئات لها،
4 أو أي حامل معروف آخر.
- 3- 1 لقاح وفقاً لعنصر الحماية (1)، حيث يتم اشتقاق مولد ضد Hib من عديد
2 سكريات مغلف لسلالة Hib b.
- 4- 1 لقاح وفقاً لعنصر الحماية (1)، حيث مولدات ضد IPV عبارة عن سلالات
2 سولك مختارة من مجموعة من النوع الأول Mahoney، والنوع الثاني MEF،
3 والنوع الثالث Saukett أو سلالات سابين مختارة من مجموعة من سابين 1 أو
4 2.
- 5- 1 لقاح وفقاً لعنصر الحماية (1)، حيث يتم امتزاز مولدات الضد D و T و aP
2 على فوسفات ألومنيوم.
- 6- 1 لقاح وفقاً لعنصر الحماية (1)، حيث يشتمل aP على الأقل على مولد ضد
2 واحد أو أكثر من مجموعة من شبيه توكسين السعال الديكي (PT)،

- 3 هيماجلوتينين فتيلي (FHA)، بيرتاكتين (P69 أو PRN)، وبروتينات هدية
4 (FIM 1 و 2 و 3).
- 7- 1 لقاح وفقاً لعنصر الحماية (1)، يشتمل على D و T و aP (PRN، FHA، PT)،
2 Hib b و IPV (النوع الأول Mahoney، النوع الثاني MEF، والنوع الثالث
3 (Saukett)، حيث يوجد D بكمية حوالي 1-40 Lf و T يوجد بكمية حوالي
4 1-25 Lf، و PT يوجد بكمية حوالي 1-40 ميكروجرام، و FHA يوجد
5 بكمية حوالي 1-15 ميكروجرام / 0.5 مل، و Hib b يوجد بكمية حوالي
6 1-20 ميكروجرام / 0.5 مل، وتوجد سلالات النوع الأول Mahoney،
7 والنوع الثاني MEF والنوع الثالث Saukett بكمية حوالي 1-50 DU، و 1-
8 DU 15، و 1-50 DU، على التوالي / 0.5 مل.
- 8- 1 لقاح وفقاً لعنصر الحماية (1)، يشتمل على D و T و aP (PRN، FHA، PT)،
2 Hib b و IPV حيث D يوجد بكمية حوالي 1-25 Lf، و T يوجد بكمية حوالي
3 1-10 Lf، و PT يوجد بكمية حوالي 1-25 ميكروجرام، و FHA يوجد بكمية
4 حوالي 1-25 ميكروجرام و PRN يوجد بكمية 8 ميكروجرام / 0.5 مل، و يوجد
5 Hib b بكمية حوالي 1-10 ميكروجرام / 0.5 مل، وتوجد سلالات النوع الأول
6 Mahoney، والنوع الثاني MEF، والنوع الثالث Saukett بكمية حوالي 1-40 DU
7 و DUA و 32 DU على التوالي لكل 0.5 مل
8
- 9- 1 لقاح مشترك ثابت سائل بالكامل يشتمل على دفتيريا (D)، وتيتانوس (T)،
2 وسعال ديكي خلوي (aP)، وإنفلونزا مولعة بالدم (Hib)، والتهاب كبدي

- 3 (HeP) وفيروس شلل أطفال (IPV)، حيث يتم امتزاز مولدات ضد D و T و aP
 4 على فوسفات ألومنيوم ويتم امتزاز مولد ضد HeP على هيدروكسيد ألومنيوم.
 5
- 10- لقاح وفقاً لعنصر الحماية (9)، حيث يتم ترافق Hib مع بروتين حامل مختار
 2 من مجموعة تشتمل على شبيه توكسين تيتانوس، شبيه توكسين دفتيريا، CRM
 3 197، وبروتين غشاء خارجي لـ *Neisseria meningitides* أو أي مكافئات لها،
 4 أو أي حامل معروف آخر.
- 11- لقاح وفقاً لعنصر الحماية (9)، حيث لا يتم بشكل رئيسي امتزاز مولد ضد
 2 Hib على أي مادة مساعدة.
- 12- لقاح وفقاً لعنصر الحماية (9)، حيث يتم اشتقاق مولد ضد Hib من عديد
 2 سكريات مغلف لسلسلة Hib b.
- 13- لقاح وفقاً لعنصر الحماية (9)، حيث يتم اشتقاق مولد ضد Hep من مولد
 2 ضد سطحي لسلسلة HepB.
- 14- لقاح وفقاً لعنصر الحماية (9)، حيث مولدات ضد IPV عبارة عن سلالات
 2 سولك مختارة من مجموعة من النوع الأول Mahoney، والنوع الثاني MEF،
 3 والنوع الثالث Saukett أو سلالات سابين مختارة من مجموعة من سابين 1 أو
 4 2.
- 15- لقاح وفقاً لعنصر الحماية (9)، حيث يشتمل aP على الأقل على مولد ضد
 2 واحد أو أكثر من مجموعة من شبيه توكسين السعال الديكي (PT)،

- 3 هيماجلوتينين فتيلي (FHA)، بيرتاكتين (P69 أو PRN)، وبروتينات هدية
4 (FIM 1 و 2 و 3).
- 16- لقاح وفقاً لعنصر الحماية (9)، يشتمل على D و T و aP (PRN، FHA، PT)،
2 Hibb، و IPV (النوع الأول Mahoney، النوع الثاني MEF، والنوع الثالث
3 (Saukett)، حيث يوجد D بكمية حوالي 1-40 Lf و T يوجد بكمية حوالي
4 1-25 Lf، و PT يوجد بكمية حوالي 1-40 ميكروجرام، و FHA يوجد
5 بكمية حوالي 1-15 ميكروجرام/ 0.5 مل، و Hibb يوجد بكمية حوالي 1-
6 20 ميكروجرام/ 0.5 مل، وتوجد سلالات النوع الأول Mahoney، والنوع
7 الثاني MEF والنوع الثالث Saukett بكمية حوالي 1-50 DU، و 1-15
8 DU، و 1-50 DU، على التوالي/ 0.5 مل.
- 17- لقاح وفقاً لعنصر الحماية (9)، يشتمل على D و T و aP (PRN، FHA، PT)،
2 Hibb و IPV حيث D يوجد بكمية حوالي 25 Lf، و T يوجد بكمية حوالي
3 10 Lf، و PT يوجد بكمية حوالي 25 ميكروجرام، و FHA يوجد بكمية
4 حوالي 25 ميكروجرام و PRN يوجد بكمية 8 ميكروجرام/ 0.5 مل، و يوجد
5 Hibb بكمية حوالي 10 ميكروجرام/ 0.5 مل، وتوجد سلالات النوع الأول
6 Mahoney، والنوع الثاني MEF، والنوع الثالث Saukett بكمية حوالي 40 DU
7 و DUA و 32 DU على التوالي لكل 0.5 مل
8
- 18- طريقة لحد استجابة مناعية لأي من مولدات ضد مختارة من مجموعة من D
2 أو T أو aP أو Hib أو Hep أو IPV تشتمل على إعطاء كمية فعالة مناعياً

- 3 من لقاح مشترك وفقاً لعنصر الحماية (1) أو عنصر الحماية (9) لخاضع.
- 19- 1 عملية لتصنيع لقاح مشترك سائل بالكامل، تشتمل على الخطوات:
- 2 (أ) تحضير مكون I يشتمل على مولدات ضد (1) دفتيريا (D) (2)
- 3 تيتانوس (T)، (3) سعال ديكبي لا خلوي (aP).
- 4 (ب) إضافة المكون I إلى مستحضر مولد ضد إنفلونزا مولعة بالدم
- 5 (Hib) للحصول على خليط.
- 6 (ج) إضافة الخليط السابق إلى مولدات ضد فيروس شلل الأطفال
- 7 (IPV).
- 8 بشرط أن Hib لا يتم امتزازه بشكل رئيسي على أي مادة مساعدة.
- 20- 1 عملية وفقاً لعنصر الحماية (19)، حيث يتم امتزاز مولد ضد D و T و aP
- 2 على فوسفات ألومنيوم.
- 21- 1 عملية وفقاً لعنصر الحماية (19)، حيث تشتمل أيضاً العملية على خطوة
- 2 إضافة 2- فينوكسي إيثانول (2-POE) كمادة حافظة إلى الصيغة.
- 22- 1 عملية وفقاً لعنصر الحماية (19)، حيث يشتمل تحضير المكون I على
- 2 الخطوات التالية:
- 3 (أ) نقل مستحضرات مولدات ضد الدفتيريا والتيتانوس جنباً إلى جنب
- 4 مع جل فوسفات ألومنيوم، ومحلول ملحي، و 2- فينوكسي إيثانول
- 5 (2-POE) في وعاء،
- 6 (ب) نقل مستحضرات مولدات ضد PT و FHA و PRN تحت
- 7 التقليب إلى الوعاء السابق للحصول على خليط،

- 8 (ج) إضافة محلول ملحي و2- POE إلى الوعاء المذكور، وفحص الرقم
9 الهيدروجيني للخليط السابق، وضبطه ليتراوح بين 6.0 و7.0.
- 1 23- عملية وفقاً لعنصر الحماية (22)، تشمل أيضاً على الخطوات:
2 (أ) نقل الخليط السابق إلى مستحضر مولد ضد Hib للحصول على خليط
3 آخر.
4 (ب) خلط الخليط المتحصل عليه في الخطوة (أ) مع مستحضر مولد ضد
5 IPV، وفحص الرقم الهيدروجيني وضبطه ليتراوح بين 6.0 و7.0.
- 1 24- عملية لتصنيع لقاح مشترك ثابت سائل بالكامل تشمل على الخطوات:
2 (أ) تحضير مكون I يشتمل على مولدات ضد (1) الدفتيريا (D)،
3 (2) التيتانوس (T)، و(3) السعال الديكي اللا خلوي (aP).
4 (ب) تحضير مكون II يشتمل على مولد ضد التهاب كبدي (Hep).
5 (ج) تجميع المكونات I وII لتكوين خليط.
6 (د) إضافة الخليط السابق إلى مولدات ضد Hib وIPV.
7 بشرط أنه قد تم امتزاز مولدات الضد D و T و aP على فوسفات ألومنيوم وأنه
8 تم امتزاز مولد ضد Hep على هيدروكسيد ألومنيوم.
- 1 25- عملية وفقاً لعنصر الحماية (24)، حيث تشمل أيضاً العملية على خطوة
2 إضافة 2- فينوكسي إيثانول (2- POE) كمادة حافظة إلى الصيغة.
- 1 26- عملية وفقاً لعنصر الحماية (24)، حيث تشمل تحضير المكون I على
2 الخطوات التالية:
3 (أ) نقل مستحضرات مولدات ضد الدفتيريا والتيتانوس جنباً إلى جنب

- مع جل فوسفات ألومنيوم، ومحلول ملحي، و2- فينوكتسي إيثانول 4
- (2-POE) في وعاء، 5
- (ب) نقل مستحضرات مولدات ضد PT و FHA و PRN تحت 6
- التقليب إلى الوعاء السابق للحصول على خليط، 7
- (ج) إضافة محلول ملحي و2- POE إلى الوعاء المذكور، وفحص الرقم 8
- الهيدروجيني للخليط السابق، وضبطه ليتراوح بين 6.0 و7.0. 9
- 27- عملية وفقاً لعنصر الحماية (24)، حيث يشتمل تحضير المكون II على 1
- الخطوات التالية: 2
- (أ) نقل جل هيدروكسيد الألومنيوم إلى وعاء، 3
- (ب) نقل مستحضر مولد ضد Hep إلى الوعاء، 4
- (ج) إضافة مستحضر محلول ملحي و2- POE تحت التقليب، وفحص الرقم 5
- الهيدروجيني، وضبطه ليتراوح بين 6.0 و7.0. 6
- 28- عملية وفقاً لعنصر الحماية (24)، حيث يشتمل تجميع المكونات I و II على 1
- خطوة نقل محتويات المكون II إلى المكون I للحصول على خليط. 2
- 29- عملية وفقاً لعنصر الحماية (28)، تشتمل أيضاً على الخطوات التالية: 1
- (أ) نقل خليط يشتمل على المكونات I و II إلى مستحضرات مولد ضد Hib 2
- للحصول على خليط آخر، وفحص الرقم الهيدروجيني، وضبطه ليتراوح بين 3
- 6.0 و7.0. 4
- (ب) نقل الخليط المتحصل عليه في الخطوة (أ) إلى مستحضر مولد الضد 5
- .IPV 6