



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0048512

(51)^{2020.01} A61K 39/00; A61P 31/00; A61K 39/29; (13) B
A61K 39/02; A61K 39/13

-
- | | |
|---|-------------------------------|
| (21) 1-2021-02554 | (22) 04/10/2019 |
| (86) PCT/IN2019/050737 04/10/2019 | (87) WO2020/075184 16/04/2020 |
| (30) 201821038850 12/10/2018 IN | |
| (45) 25/07/2025 448 | (43) 27/09/2021 402A |
| (73) SERUM INSTITUTE OF INDIA PRIVATE LTD. (IN)
212/2, Off Soli Poonawalla Road, Hadapsar, Pune Maharashtra 411028, India | |
| (72) SHARMA, Inder Jit (IN); Rakesh Kumar (IN); KILVANI, Jaganathan
Semburakkiannan (IN); DODDAPANENI, Manohar (IN); SHITOLE, Anil
Vyankatrao (IN). | |
| (74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyền (INVENCO.,LTD) | |
-

(54) CHẾ PHẨM MIỄN DỊCH ĐA LIỀU DẠNG LÔNG HOÀN TOÀN VÀ QUY TRÌNH SẢN XUẤT CHẾ PHẨM NÀY

(21) 1-2021-02554

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm miễn dịch dạng lỏng hoàn toàn chứa hỗn hợp của kháng nguyên/chất sinh miễn dịch. Chế phẩm miễn dịch chứa một lượng tối ưu kháng nguyên/chất sinh miễn dịch để đem lại khả năng bảo vệ chống lại một số bệnh. Chế phẩm này thể hiện tính miễn dịch và độ ổn định tốt hơn. Ngoài ra, sáng chế cũng đề xuất quy trình bào chế chế phẩm vaccin.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến lĩnh vực công nghệ sinh học, cụ thể hơn là, sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế chế phẩm vacxin kết hợp đa liều chứa một nhóm kháng nguyên/chất sinh miễn dịch và chất bảo quản. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp cải tiến trong lĩnh vực sản xuất vacxin kết hợp.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Vacxin kết hợp mà có thể đem lại khả năng sinh miễn dịch chống lại nhiều loại bệnh luôn có lợi hơn so với vacxin đơn giá nhờ làm giảm số lần tiêm, giảm các biến chứng có liên quan đến nhiều mũi tiêm bắp gây ra, giảm chi phí sử dụng và sản xuất, giảm chi phí kho bãi, giảm nguy cơ tiêm chủng chậm hoặc sót và cải thiện sự tuân thủ của bệnh nhân bằng cách giảm số lần tiêm chủng riêng biệt. Hơn nữa, các chế phẩm dạng lỏng hoàn toàn của vacxin kết hợp có các ưu điểm riêng so với các chế phẩm mà cần hoàn nguyên. Thời gian bảo chế trung bình đối với vacxin dạng lỏng hoàn toàn được nhận thấy là hầu như bằng một nửa thời gian cần để bảo chế vacxin không phải dạng lỏng hoàn toàn. Hầu như toàn bộ nhân viên y tế (97,6%) đều chỉ ra rằng họ thích sử dụng vacxin dạng lỏng hoàn toàn hơn trong công việc hàng ngày của họ. (Ref: Soubeyrand B, et al; Assessment of preparation time with fully-liquid versus non-fully liquid paediatric hexavalent vaccines. A time and motion study; Vaccine 2015; 33:3976-82).

Vacxin kết hợp hiện có và đã biết hiện nay có thể không chứa các chế phẩm thích hợp của các kháng nguyên thích hợp ở dạng sinh miễn dịch thích hợp để đạt được mức an toàn, hiệu quả và khả năng sinh miễn dịch mong muốn với một số bệnh trong một lần tiêm ở một nhóm dân số nhạy cảm. Số lượng vacxin kết hợp khác nhau có thể được tạo ra chỉ với một số kháng nguyên khác là đáng kể. Bằng cách bổ sung từ 1 đến 4 thành phần kháng nguyên khác (ví dụ HIB (dạng đông khô

hoặc dạng lỏng), HBV, IPV, HAV) vào DTwP hoặc DTaP, có thể tạo ra 44 dạng vaccin kết hợp khác nhau. Con số này sẽ tăng lên đến hàng nghìn nếu từng thành phần từ các nhà sản xuất khác nhau được xem xét. Khi mọi vaccin kết hợp mới (có tính đến sự khác nhau về thành phần theo nguồn gốc) cần phải được xem xét riêng để chứng minh độ an toàn, độ ổn định, khả năng tương thích và hiệu quả thì việc phát triển tất cả các vaccin này trở thành nhiệm vụ đầy thử thách.

Các kháng nguyên trong vaccin kết hợp:

Các kháng nguyên bạch hầu và uốn ván

Bạch hầu và uốn ván là các bệnh truyền nhiễm cấp tính lần lượt do *Corynebacterium diphtheriae* và *Clostridium tetani* gây ra. Ở cả hai bệnh này, ngoại độc tố có hiệu lực của các vi khuẩn này là nguyên nhân gây ra bệnh lâm sàng. Các vaccin có khả năng bảo vệ chống lại các vi khuẩn này chứa các độc tố mà đã được cải biến về mặt hóa học để tạo thành các giải độc tố, một độc tố đã cải biến về mặt hóa học không còn độc nữa song vẫn có tính kháng nguyên. Độc tố bạch hầu và uốn ván được sản sinh bằng cách nuôi cấy *Corynebacterium diphtheriae* và *Clostridium tetani* trong môi trường chứa dịch chiết từ bò. Các độc tố được làm bất hoạt nhờ xử lý sau bao gồm xử lý bằng nhiệt, UV, Formalin/Formaldehyt, glutaraldehyt, Axetyetylenimin, v.v. để tạo ra các giải độc tố [Giải độc tố bạch hầu (D) và Giải độc tố uốn ván (T)]. Các quan ngại về bệnh não xốp ở bò (Bovine spongiform encephalopathy-BSE), bệnh não xốp truyền nhiễm (Transmissible spongiform encephalopathy-TSE), bệnh Creutzfeldt - Jakob (CJD và các bệnh CJD biến thể) có thể bắt nguồn từ các thành phần của động vật được sử dụng trong môi trường nuôi cấy chứa dịch chiết từ bò truyền qua vaccin. (Ref: WHO Guidelines on Transmissible Spongiform Encephalopathies in relation to Biological và Pharmaceutical Products; 2003 & EMEA/CPMP/BWP/819/01; 24 April 2001).

Các kháng nguyên ho gà

Việc giới thiệu các vaccin nguyên bào chứa vi khuẩn *Bordetella pertussis* được bất hoạt bằng phương pháp hóa học hoặc bằng nhiệt vào những năm 1940 đã làm giảm đáng kể tỷ lệ mắc ho gà do *B. pertussis* gây ra.

Vaxxin DTP nguyên bào thường có liên quan đến một số phản ứng bất thường khu trú (ví dụ, ban đỏ, sưng, và đau ở vị trí tiêm), sốt, và các phản ứng toàn thân nhẹ khác (ví dụ, tình trạng buồn ngủ, tình trạng cáu kỉnh, và tình trạng chán ăn) (Ref: Cody CL, Baraff LJ, Cherry JD, Marcy SM, Manclark CR; The nature and rate of adverse reactions associated with DTP and DT immunization in infants and children. *Paediatrics* 1981; 68:650-60) & (Ref: Long SS, DeForest A, Pennridge Pediatric Associates, et al. Longitudinal study of adverse reactions following Diphtheria-tetanus-pertussis vaccine in infancy. *Paediatrics* 1990; 85:294-302). Nhiều phản ứng toàn thân nặng (ví dụ, phản ứng co giật {kèm hoặc không kèm sốt} và cơn giảm trương lực giảm phản ứng) xảy ra với tần xuất ít hơn (tỷ lệ một ca trong số 1.750 liều được sử dụng) trong số các trẻ được tiêm vaxxin DTP nguyên bào (Ref: Cody CL, Baraff LJ, Cherry JD, Marcy SM, Manclark CR; The nature and rate of adverse reactions associated with DTP and DT immunization in infants and children. *Paediatrics* 1981; 68:650-60). Bệnh não cấp tính thậm chí còn hiếm khi xảy ra (tỷ lệ 0-10,5 ca trong số một triệu liều được sử dụng). Các chuyên gia đồng ý rằng vaxxin ho gà nguyên bào gây tổn thương não kéo dài ở một số trường hợp hiếm gặp. (Ref: Institute of Medicine; DPT vaccine and chronic nervous system dysfunction, a new analysis; Washington D.C., National Academy Press, 1994).

Một vài báo cáo cho thấy có mối liên hệ giữa việc tiêm chủng vaxxin ho gà nguyên bào, khả năng gây phản ứng và các tác dụng phụ nghiêm trọng dẫn đến làm giảm việc chấp nhận vaxxin và hậu quả là dịch bệnh gia tăng (Miller, D.L., Ross, E.M., Alderslade, R., Bellman, M.H., and Brawson, N.S.B. (1981). Pertussis immunization and serious acute neurological illness in children: *Brit Med. J.* 282: 1595-1599).

Các phản ứng bất lợi có liên quan đến thành phần ho gà nguyên bào (wP) là trở ngại cho việc tiếp tục sử dụng trên toàn thế giới và do đó các vaxxin kết hợp dựa trên wP dần được thay thế bằng các vaxxin kết hợp dựa trên thành phần ho gà vô bào trên thế giới công nghiệp hóa.

Gần đây, các vaccin chứa thành phần ho gà xác định đã được phát triển. Toàn bộ các vaccin sáu giá dạng lỏng dựa trên thành phần ho gà vô bào (DTaP IPV PRP-T-HBsAg) đã được báo cáo trước đó (EP1028750).

Infanrix® Hexa (GSK) hiện là vaccin kết hợp cho trẻ em sáu giá duy nhất được bán trên thị trường chứa IPV Salk. Sản phẩm này (DTaP3 -IPV-HBV//Hib) được bán dưới dạng bơm tiêm nạp sẵn chứa sản phẩm năm giá được đóng gói đồng thời với dạng tiếp hợp PRP-T kháng nguyên Hib đông khô trong một lọ riêng được hoàn nguyên bằng phần còn lại của vaccin trước khi sử dụng.

Vaccin sáu giá thứ hai, Hexyon® (cũng được gọi là Hexacima® và Hexaxim®) là một vaccin sáu giá dạng lỏng hoàn toàn do Sanofi Pasteur sản xuất; tuy nhiên vaccin này cũng chứa thành phần ho gà vô bào. Vaccin này có thể hướng tới các thị trường riêng ở châu Âu và trên thế giới.

Vaccin kết hợp bảy giá được phát triển bởi Bharat Biotech International chứa DT, thành phần ho gà vô bào, IPV Sabin (typ I: 40 DU, Typ 2: 8 DU, Typ 3: 32DU), Một chủng rotavirut đã bất hoạt (chủng G9 tức là chủng 116E), Haemophilus influenza typ b PRP tiếp hợp với TT và vaccin viêm gan B tái tổ hợp.

Tuy nhiên, đã có các quan ngại về hiệu quả lâu dài của các vaccin ho gà vô bào (aP), đặc biệt là các nước đang phát triển. Các báo cáo gần đây đề xuất rằng tính miễn dịch với ho gà mất dần ở thanh niên và là nguyên nhân làm tăng số ca nhiễm ở trẻ dưới 6 tháng tuổi, trước khi được tiêm chủng đầy đủ. Hiệu quả vaccin có aP được ước tính là 24% ở trẻ 8 đến 12 tuổi được chủng ngừa. Một nghiên cứu quan sát ở Úc cũng đã cho thấy tỷ lệ các ca nhiễm ở trẻ được tiêm vaccin aP cao hơn so với trẻ được tiêm vaccin wP (tỷ lệ nguy cơ tương đối là 3,3, khoảng tin cậy 95% là 2,4–4,5).

Theo quan điểm về chi phí, kháng nguyên aP có chi phí cao hơn so với chi phí của kháng nguyên wP với hệ số nằm trong khoảng từ 10 đến 30 do các khác biệt về sản xuất và chi phí bản quyền phát minh và do đó tạo nên gánh nặng kinh tế cho các nước đang phát triển. Kết quả là, chi phí của các vaccin sáu giá trên cơ sở wP sẽ

phù hợp hơn để sử dụng cho khối cộng đồng của các nước có nguồn tài nguyên thấp.

Do đó, việc sử dụng thành phần ho gà nguyên bào (wP) trong các vaccin sáu giá được dự định cho các nước đang phát triển trở nên quan trọng do chi phí và các quan ngại gần đây về hiệu quả lâu dài của các vaccin aP, đặc biệt là ở các nước đang phát triển.

So với các vaccin chứa thành phần ho gà nguyên bào (wP) tốt nhất, các vaccin aP không có hiệu quả trong các chương trình tiêm chủng hàng loạt (Vickers et al. 2006; Cherry 2012).

Các nghiên cứu gần đây về sự bùng phát dịch ở các dân cư đã được gây miễn dịch đã cho thấy rằng thời gian bảo vệ của vaccin aP là quá ngắn (Klein et al. 2012; Misegades et al. 2012), dẫn đến làm giảm tính miễn dịch ở trẻ lớn và thanh niên, và gia tăng tương ứng các ca nhiễm ở nhóm tuổi này (Skowronski et al. 2002; Klein et al. 2012). Kết quả này là trái ngược với vaccin wP, mà đem lại sự bảo vệ tốt ở trẻ có độ tuổi thiếu niên (Klein et al. 2012). Kết quả của các thiếu sót này, ở các nước mà chuyển sang dùng vaccin aP vào những năm 1990 là có một thế hệ trẻ em không chỉ được bảo vệ kém trước bệnh ho gà mà còn phản ứng kém hơn với các liều nhắc lại, vì vaccin mà trẻ đã được tiêm chủng lần đầu có thể quyết định phản ứng miễn dịch với việc tiêm chủng nhắc lại sau đó (Podda et al. 1995; Mascart et al. 2007; Sheridan et al. 2012; Liko, Robison and Cieslak 2013; Smits et al. 2013).

Một trong số các yếu tố quan trọng mà góp phần cho khả năng gây phản ứng của wP là sự có mặt của lipo-oligosacarit (LOS), nội độc tố từ màng ngoài của vi khuẩn.

Việc bất hoạt các độc tố trong vaccin wP có thể được tiến hành bằng nhiều phương pháp khác nhau, nhưng không độc tố không bền nhiệt hoạt động nào được phát hiện trong sản phẩm cuối. Quy trình bất hoạt các độc tố wP trong bán thành phẩm chứa thành phần ho gà nguyên bào (wP) được tiến hành bởi nhiều nhà sản xuất sử dụng formalin/xử lý nhiệt. Một vài báo cáo viện dẫn việc sử dụng thimerosal để bất hoạt wP. Tuy nhiên, việc sử dụng thimerosal lại làm mất tính

kháng nguyên của IPV (Vaccine 1994 Volume 12 No. 9 851 - 856. Deleterious effect of thimerosal on the potency of inactivated poliovirus vaccine), và do đó trong trường hợp vaccin kết hợp chứa IPV có thể cần được trình bày trong lọ riêng với wP chứa thimerosal để duy trì hiệu lực của nó theo thời gian hoặc thay đổi việc bất hoạt nguồn bán thành phẩm ho gà. Một vài kháng nguyên, tức là PT có hoạt tính cũng có thể dùng làm chất cải biến đáp ứng miễn dịch, và đã quan sát thấy các khác biệt đáng kể về đáp ứng miễn dịch với các kháng nguyên khác nhau giữa các vaccin khác nhau (WHO, 1993).

Chiết LOS bằng phương pháp hóa học dẫn đến làm giảm đáng kể lượng nội độc tố (20%) và giảm rõ rệt tính độc có liên quan đến nội độc tố (lên đến 97%), tùy thuộc vào thử nghiệm in vitro hay in vivo được sử dụng. Chiết LOS không làm ảnh hưởng đến tính nguyên vẹn của sản phẩm và quan trọng hơn là, không làm ảnh hưởng đến hiệu lực và/hoặc độ ổn định của DTP. Hơn nữa, hầu như không quan sát thấy các thay đổi bất kỳ ở kháng thể và các đáp ứng tế bào T. (Ref: Waldely Oliveira Dias et. al; An improved whole cell pertussis vaccin with reduced content of endotoxin; Human Vaccines & Immunotherapeutics 9:2, 339–348; February 2012)

Các kháng nguyên viêm gan B

Có nhiều chủng virus viêm gan khác nhau. Viêm gan B là bệnh được gây ra bởi virus viêm gan B (HepB) mà lây nhiễm vào gan của người, và gây viêm được gọi là viêm gan. Vaccin chống lại bệnh này chứa một trong số các protein vỏ của virus, kháng nguyên bề mặt viêm gan B (hepatitis B surface antigen-HBsAg). Các vaccin mà được sử dụng để gây miễn dịch hàng loạt hiện có sẵn, ví dụ sản phẩm Recombivax HB® và Comvax® do Merck sản xuất, Engerix-B® và Pediarix® do Glaxo SmithKline Biologicals sản xuất. Vaccin kết hợp có thành phần viêm gan B thu được kết quả tuân thủ và hoàn thành mũi tiêm cao hơn so với vaccin chứa một kháng nguyên HepB. (Ref: Kurosky. et. al; Effect of Combination Vaccines on Hepatitis B Vaccine Compliance in Children in the United States; The Pediatric Infectious Disease Journal. 36(7):e189–e196, JUL 2017). Một số tài liệu viện dẫn đề cập đến việc hấp phụ kháng nguyên bề mặt viêm gan B lên nhôm phosphat kết hợp với các kháng nguyên khác. Hexavac® một vaccin kết hợp mà đã được rút khỏi

thị trường do tính miễn dịch của thành phần viêm gan B thấp. Do đó vẫn cần một chế phẩm vaccin kết hợp chứa kháng nguyên viêm gan B có tính miễn dịch đủ hoặc tính miễn dịch được tăng cường.

Kháng nguyên haemophilus influenzae (Hib)

Haemophilus influenzae là một coccobacillus gram âm mà là một thành phần thường có trong hệ đường hô hấp trên. Haemophilus influenzae typ b (Hib b) là nguyên nhân chính gây ra bệnh lây truyền qua đường máu xâm lấn gây viêm màng não ở trẻ em và là nguyên nhân chính gây viêm màng não trong hai năm đầu đời. Việc gây miễn dịch chống lại Haemophilus influenzae bằng vaccin polysaccharit bắt đầu ở Canada vào năm 1987 [polyriboza ribitol phosphat (PRP)]. Vỏ polyribosylribitol phosphat (PRP) của Hib là yếu tố gây độc lực chính cho vi sinh vật. Kháng thể kháng PRP là yếu tố góp phần chính cho hoạt tính diệt khuẩn trong huyết thanh, và làm tăng lượng kháng thể kèm theo việc làm giảm nguy cơ gây ra bệnh xâm lấn. PRP là một kháng nguyên độc lập với tế bào T và do đó được đặc trưng bởi a) gây ra đáp ứng kháng thể kém ở trẻ dưới 18 tháng tuổi và trẻ nhỏ, b) đáp ứng kháng thể thay đổi và nhỏ hơn về lượng so với đáp ứng được quan sát thấy ở các kháng nguyên phụ thuộc vào tế bào T, c) tạo ra tỷ lệ globulin miễn dịch M (IgM) lớn hơn, và d) không có khả năng gây ra đáp ứng nhắc lại.

Các vaccin đầu tiên chỉ dựa trên thành phần PRP đã được chứng minh là không có hiệu quả ở trẻ sơ sinh. Các nỗ lực khác nhằm vào vaccin tiếp hợp PRP, trong đó PRP được tiếp hợp với protein được gọi là protein mang như protein màng ngoài của *Neisseria meningitides*, giải độc tố bạch hầu, giải độc tố uốn ván và CRM 197. Việc đưa các thành phần tiếp hợp Hib vào vaccin kết hợp đã dẫn đến tính miễn dịch với Hib giảm. Hơn nữa, các thể tiếp hợp Hib là không ổn định trong môi trường chứa nước và không thể sống sót khi bảo quản kéo dài ở dạng này. Do đó, polysaccharit PRP của Haemophilus influenzae b (Hib) thường được bào chế dưới dạng chất rắn khô, được hoàn nguyên ở thời điểm tiêm bằng chế phẩm dạng lỏng chứa các kháng nguyên khác. Ví dụ Infanrix® hexa (WO99/48525).

Kháng nguyên bại liệt

Các loại vaccin khác nhau hiện có:

- Vaccin bại liệt sống giảm độc lực (đã làm yếu) dùng qua đường miệng (oral polio vaccine-OPV) được phát triển bởi Dr. Albert Sabin vào năm 1961. OPV, chứa các chủng Sabin, được dùng qua đường miệng.
- Vaccin bại liệt đã bất hoạt (chết) (IPV) được phát triển vào năm 1955 bởi Dr. Jonas Salk. IPV, chứa các chủng Salk, được dùng dưới dạng tiêm.
- Gần đây, virus bại liệt đã bất hoạt Sabin, mà được bào chế bằng cách bất hoạt các chủng Sabin của virus bại liệt bằng formalin, đã được phát triển để tiêm và cũng hiện có trong các sản phẩm thương mại.

Cả vaccin bại liệt sống giảm độc lực (OPV) và bất hoạt (IPV) đều có hiệu quả trong việc kiểm soát bệnh bại liệt trên thế giới. Vaccin bại liệt có thể chứa chủng Salk hoặc Sabin.

Vào năm 1955, Dr. Jonas Salk đã thành công trong việc làm bất hoạt virus bại liệt kiểu đại, do đó cho phép đưa nó vào trong chế phẩm dạng tiêm, và đặt tên nó là chủng Salk, mà bao gồm Mahoney typ 1, MEF typ 2, và Saukett typ 3 được sử dụng trong vaccin chống lại bệnh bại liệt. Các chủng Sabin bao gồm các chủng Sabin 1 và Sabin 2.

Liều chuẩn chấp nhận được hiện nay của (các) vaccin bại liệt chứa 40 đơn vị kháng nguyên D của virus bại liệt đã bất hoạt typ 1 (Mahoney), 40 đơn vị kháng nguyên D của virus bại liệt đã bất hoạt typ 2 (MEF-I) và 32 đơn vị kháng nguyên D của virus bại liệt đã bất hoạt typ 3 (Saukett) ví dụ Infanrix- hexa® (WO99/48525).

IPV hiện có sẵn dưới dạng chế phẩm không phụ thuộc không chứa tá dược, hoặc dưới dạng các chế phẩm kết hợp khác nhau, bao gồm DT-IPV (với các giải độc tố bạch hầu và uốn ván) và vaccin IPV sáu giá (có thêm thành phần ho gà, viêm gan B, Haemophilus influenzae b và tá dược) ví dụ Infanrix® hexa (WO99/48525).

Tuy nhiên, khi so sánh với OPV, tổng chi phí sản xuất IPV lại cao hơn đáng kể. Nguyên nhân chủ yếu là do các yêu cầu về: (i) nhiều loại virus trong mỗi liều;

(ii) xử lý thêm về sau (tức là, cô, tinh chế và bất hoạt), và kiểm tra chất lượng có liên quan (iii) về mức hao hụt kháng nguyên hoặc thu hồi kém trong quá trình xử lý sản phẩm ra và iv) đồ chứa. Cho đến nay, thách thức về tài chính là nhược điểm chính trong việc cải tiến IPV và thực hiện ở các nước có thu nhập thấp và trung bình.

Nhu cầu về IPV trong tương lai trên toàn cầu sau khi xóa sổ virus bại liệt có thể tăng từ mức hiện nay là 80 triệu liều đến 450 triệu liều mỗi năm. Do đó, các biện pháp "mở rộng" việc cung cấp IPV có thể là cần thiết.

Các tác giả sáng chế đã ngạc nhiên phát hiện ra rằng liều giảm của IPV đều cho thấy khả năng bảo vệ tương đương/không kém hơn chống lại bệnh bại liệt khi so sánh với liều chuẩn của kháng nguyên IPV. Các chế phẩm vaccin liều giảm hiệu quả mà đem lại khả năng bảo vệ chống lại sự lây nhiễm sử dụng liều kháng nguyên IPV thấp hơn là mong muốn trong trường hợp việc cung ứng vaccin thông thường là không đủ để đáp ứng nhu cầu của toàn cầu hoặc chi phí sản xuất vaccin thông thường ngăn cản vaccin được bán với giá mà chấp nhận được cho các nước đang phát triển. Ngoài ra việc phơi nhiễm với liều thấp hơn của IPV so với các chế phẩm bán trên thị trường hiện nay có thể an toàn hơn. Do đó, nhiều chiến lược khác nhau để tạo ra IPV với giá dễ chấp nhận hơn cần được đánh giá. Do đó vaccin kết hợp chứa liều giảm IPV có thể khiến cho giá thành vaccin rẻ hơn và dễ sử dụng hơn.

Trong trường hợp vaccin phòng đại dịch cúm, việc sử dụng các tá dược đã cho phép giảm liều, tăng độ khả dụng và giảm chi phí sản xuất vaccin. Do đó, đã nghiên cứu thấy rằng chế phẩm vaccin IPV chứa tá dược sẽ làm giảm chi phí và cũng làm tăng số liều IPV sử dụng trên toàn thế giới.

Ngoài ra, các muối nhôm đã được coi là an toàn, đã được sử dụng trong các vaccin kết hợp chứa IPV, có các rào cản phát triển thấp nhất và chi phí sản xuất thấp. Tuy nhiên, các tá dược nhôm chưa được biết đến là cho phép giảm liều đáng kể.

Ngoài ra, kháng nguyên ho gà nguyên bào có mặt trong vaccin sáu giá đã được chứng minh là chất kích thích miễn dịch mạnh. Do tác dụng kích thích miễn

dịch của cả tá dược nhôm phosphat và vaccin ho gà nguyên bào, các tác giả sáng chế đã cho rằng là đạt được đáp ứng miễn dịch tốt với liều giảm của IPV.

Các kháng nguyên khác

Các kháng nguyên khác có thể được bao gồm trong vaccin kết hợp là *Haemophilus influenzae* (các typ huyết thanh a, c, d, e, f và các chủng không được bao nang), viêm gan (các chủng A, C, D, E, F và G), *Neisseria meningitis* A, B, C, W, X, Y, cúm, *Pneumococci*, *Streptococci*, kháng nguyên bệnh than, Dengue, sốt rét, sởi, quai bị, Rubella, BCG, Viêm não Nhật Bản, rotavirut, đậu mùa, sốt vàng, thương hàn, Zona, virut thủy đậu, và các kháng nguyên khác.

Phạm vi và loại kháng nguyên được sử dụng trong vaccin kết hợp tùy thuộc vào tuổi dân số đích được sử dụng như trẻ sơ sinh, trẻ mới biết đi, trẻ em, thanh niên và người lớn. Vaccin kết hợp đã biết gần nhất có thể ngăn ngừa sự lây nhiễm từ *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, và virut bại liệt đã bất hoạt tùy ý (inactivated poliovirus-IPV), và/hoặc virut viêm gan B, và/hoặc sự lây nhiễm từ *Haemophilus influenzae* typ b là đã biết (ví dụ xem công bố đơn quốc tế số WO 93/24148, WO97/00697, WO2000/030678, WO2008/028956, đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 6013264 và công bố đơn quốc tế số WO2005089794).

Tuy nhiên, hiện tượng cạnh tranh kháng nguyên đã bộc lộ rõ trong tài liệu đã làm cho việc phát triển vaccin đa giá trở nên phức tạp và gây cản trở việc phát triển. Hiện tượng này đề cập đến quan sát rằng việc sử dụng nhiều kháng nguyên cùng nhau thường dẫn đến đáp ứng giảm với các kháng nguyên nhất định so với đáp ứng miễn dịch với các kháng nguyên này khi được sử dụng riêng.

Trong khi đó, vaccin đa liều cần chứa chất bảo quản để tránh sự tạp nhiễm của các vi khuẩn có hại. Đối với các sản phẩm vaccin được xuất khẩu sang các nước kém phát triển, vaccin đa liều chứa chất bảo quản được ưu tiên hơn, có tính đến các điều kiện môi trường của các nước này nơi mà vaccin được sử dụng, các phương pháp phân phối v.v.. Ví dụ về các chất bảo quản mà được sử dụng bao gồm Benzethoni clorua (Phemerol), Thiomersal, Phenol, Formaldehyt và 2-

phenoxyetanol (2-PE) là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các chất bảo quản thích hợp dùng cho vacxin cần an toàn với môi trường, có hiệu quả chống lại vi khuẩn cũng như là nấm men và các nấm khác và không có tác dụng tiêu cực đến hiệu quả gây miễn dịch của vacxin.

Thiomersal là dẫn xuất của etyl thủy ngân mà được sử dụng rộng rãi trong nhiều loại vacxin dưới dạng chất bảo quản. Thimerosal đã được biết đến là ngăn ngừa sự phát triển của các vi sinh vật tạp nhiễm và duy trì các điều kiện vô trùng trong quá trình bảo quản hoặc sử dụng các sản phẩm vacxin, và nhiều loại vacxin kết hợp, mà đã được kiểm tra chất lượng sơ bộ bởi WHO (Prequalification-PQ), chứa thimerosal làm chất bảo quản. Tuy nhiên, có các báo cáo về các phản ứng dị ứng nhất định (ở khoảng 16% dân số) có liên quan đến thiomersal chủ yếu ở dạng các phản ứng quá mẫn cục bộ loại kéo dài, bao gồm đỏ và sưng ở vị trí tiêm.

Ngoài ra, vacxin bại liệt đã bất hoạt thường sử dụng 2-PE làm chất bảo quản thay vì thiomersal vì việc sử dụng thiomersal làm chất bảo quản trong vacxin bại liệt đã bất hoạt được biết đến là làm giảm hiệu lực của vacxin 50% hoặc nhiều hơn trong một tuần ngay cả khi bảo quản trong tủ lạnh. (Vaccine 1994 Volume 12 No.9 851 - 856. Deleterious effect of thimerosal on the potency of inactivated poliovirus vaccine).

Vacxin kết hợp (bao gồm D, T, wP, Hib, HBsAg, và IPV) cũng sử dụng 2-PE với nồng độ 5 mg/mL (công bố đơn quốc tế số WO2010046934, WO2008020322, và WO2012093406).

Tuy nhiên, 2-PE được nhận thấy là có hoạt tính kháng khuẩn yếu hơn thimerosal chống lại nấm men và nấm trong vacxin kết hợp dựa trên DPT ở nhiệt độ 2-8°C. Việc cải thiện hiệu quả của chất bảo quản trong vacxin kết hợp bằng cách làm tăng lượng 2-PE để đáp ứng các tiêu chuẩn cần thiết là một trong số các lựa chọn. Tuy nhiên, việc tăng nồng độ 2PE có thể gây ra các vấn đề về độ an toàn ở trẻ nhỏ mà là các đối tượng tiếp nhận vacxin kết hợp và do đó dẫn đến các rào cản pháp lý để phê chuẩn (các) vacxin này.

Do đó, có lợi khi cải thiện hiệu quả của chất bảo quản trong vacxin kết hợp bằng cách kết hợp 2-PE với ít nhất một chất bảo quản khác mà đáp ứng các tiêu chuẩn pháp lý và độ an toàn. Các ví dụ về chất bảo quản ngoài 2-PE mà có thể được sử dụng bao gồm Benzethoni clorua (Phemerol), este paraben, Phenol, formaldehyt là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Metyl và propyl paraben, rượu benzylic được nhận thấy là vượt qua được kiểm tra tính kháng khuẩn theo USP, BP, và EP. Ngoài ra, các chất bảo quản này là không độc, song có hiệu quả. Tính độc của paraben là tương đối thấp, do cơ thể tự đào thải dễ dàng và nhanh chóng nó trong các dược phẩm này. LD50 của metyl paraben ở chuột tiêm trong màng bụng là 1g/kg. Hỗn hợp của metyl và propyl paraben chưa từng được phát hiện thấy là được sử dụng trong các vacxin thương mại.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng hiệu quả của chất bảo quản trong hỗn hợp chứa các este 2-phenoxyetanol và paraben, (ví dụ metyl-, propyl-paraben) là tương đối có hiệu quả nhiều hơn so với một mình 2-phenoxyetanol.

Ngoài ra, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng tính miễn dịch, khả năng gây phản ứng, độ ổn định và việc duy trì dạng đúng của các kháng nguyên trong chế phẩm vacxin kết hợp tùy thuộc vào cách bào chế chế phẩm bao gồm:

- a) Quy trình tạo ra từng kháng nguyên
- b) Trình tự bổ sung các kháng nguyên
- c) Sử dụng các tá dược cụ thể với lượng cụ thể cho các kháng nguyên nhất định,
- d) Hấp phụ riêng hoặc hấp phụ kết hợp các kháng nguyên lên các tá dược trong đó hấp thụ kết hợp có ưu điểm là dễ thực hiện và có nhược điểm là các kháng nguyên được hấp thụ trước đầu tiên có thể giải hấp một phần hoặc hoàn toàn khi bổ sung các kháng nguyên tiếp theo. Các kháng nguyên được bổ sung ở bước cuối có thể không được hấp phụ hoàn toàn như các kháng nguyên trước có thể làm bão hòa khả năng hấp phụ. Các kháng nguyên hấp phụ kém có thể bị giải hấp khi bảo quản.
- e) Mức hấp phụ của kháng nguyên lên tá dược

- f) Sử dụng nồng độ nhôm tối thiểu
- g) Sử dụng nồng độ và loại chất bảo quản tối ưu
- h) Sử dụng các thông số khác nhau bao gồm khuấy, nhiệt độ và độ pH.

Mục đích

Một vài mục đích của sáng chế, mà ít nhất một phương án nêu ở đây thỏa mãn là như sau:

Mục đích của sáng chế là cải thiện một hoặc nhiều vấn đề của giải pháp kỹ thuật đã biết hoặc ít nhất đề xuất một giải pháp thay thế hữu ích.

Một mục đích khác của sáng chế là tạo ra vaccin kết hợp dạng lỏng hoàn toàn thích hợp để ngăn ngừa và phòng ngừa các bệnh truyền nhiễm do bạch hầu, uốn ván, ho gà, bại liệt, *Haemophilus influenzae* và viêm gan B hoặc ngăn ngừa, cải thiện, hoặc làm chậm sự khởi phát hoặc sự tiến triển các biểu hiện lâm sàng của chúng.

Mục đích khác của sáng chế là tạo ra vaccin kết hợp dạng lỏng hoàn toàn chứa các kháng nguyên virus bại liệt đã bất hoạt giảm liều (IPV) mà có khả năng bảo vệ tương đương/không thấp hơn chống lại bệnh bại liệt khi so sánh với liều chuẩn của kháng nguyên IPV.

Mục đích khác của sáng chế là đề xuất vaccin kết hợp dạng lỏng hoàn toàn chứa ít nhất một paraben tức là chất bảo quản methyl hoặc propyl paraben và 2-phenoxyetanol (2-PE) để cải thiện hiệu quả chất bảo quản của vaccin kết hợp đa liều.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất phương pháp sản xuất cải tiến chế phẩm vaccin kết hợp trong đó, vaccin này có tính miễn dịch cải thiện làm giảm khả năng gây phản ứng, cải thiện độ ổn định và còn đáp ứng các tiêu chuẩn bảo vệ huyết thanh của mỗi thành phần trong số các thành phần gây miễn dịch.

Các mục đích và ưu điểm khác của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng hơn dựa vào phần mô tả dưới đây, mà không được dự định là làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Chế phẩm vaccin kết hợp chứa kháng nguyên virus bại liệt đã bất hoạt giảm liều (IPV) được kết hợp với kháng nguyên/chất sinh miễn dịch khác và ít nhất một este paraben tức là methyl hoặc propyl paraben và 2-phenoxyetanol (2-PE) được sử dụng làm chất bảo quản, trong đó hiệu quả chất bảo quản trong vaccin kết hợp đa liều được cải thiện và quy trình sản xuất nó.

Sáng chế đề cập đến chế phẩm vaccin kết hợp chứa:

a) giải độc tố bạch hầu (D) và giải độc tố uốn ván (T) đã tinh chế kỹ được sản xuất bằng cách sử dụng môi trường bán tổng hợp, sau đó giải độc tố và hấp phụ riêng lên tá dược nhôm phosphat nhờ đó dẫn đến tăng cường tính miễn dịch.

b) thành phần *B. pertussis* (wP) nguyên bào đã bất hoạt được tạo ra bằng cách kết hợp cả phương pháp bất hoạt bằng nhiệt và phương pháp bất hoạt hóa học, các chủng *Bordetella pertussis* với tỷ lệ cụ thể dẫn đến làm giảm khả năng gây phản ứng và làm tăng hiệu quả.

c) kháng nguyên polysaccharit vỏ (PRP) của *Haemophilus influenzae typ b* (Hib) được tiếp hợp với protein mang (CP).

d) Liều giảm của IPV Salk hoặc Sabin (Virus bại liệt đã bất hoạt) cho thấy hiệu quả tương đương so với liều chuẩn được bào chế bằng cách sử dụng các phương pháp cải tiến làm bất hoạt bằng formaldehyt và tùy ý hấp phụ lên tá dược nhôm phosphat.

e) Kháng nguyên bề mặt viêm gan B (HepB) hấp phụ riêng lên tá dược nhôm phosphat nhờ đó dẫn đến làm tăng cường tính miễn dịch

f) Lượng nhôm tối thiểu nhờ đó đảm bảo khả năng gây phản ứng giảm

g) Ít nhất một este paraben tức là methyl hoặc propyl paraben ngoài 2-phenoxyetanol (2-PE) làm chất bảo quản.

Mô tả chi tiết sáng chế

Mặc dù sáng chế có thể còn có các phương án khác, song các phương án nhất định được thể hiện trong phần mô tả chi tiết dưới đây, cần hiểu rằng sáng chế có thể được coi là một ví dụ minh họa cho các nguyên tắc trong sáng chế và không được dự định là làm giới hạn phạm vi của phần mô tả được minh họa và bộc lộ trong sáng chế. Các phương án được đề cập để truyền đạt kỹ và đầy đủ phạm vi của sáng chế cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Số lượng thông số chi tiết được nêu có liên quan đến các thành phần cụ thể, và các phương pháp để có thể hiểu hoàn toàn các phương án của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hiểu rằng các thông số chi tiết được đề cập trong các phương án này sẽ không làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Theo một số phương án, chế phẩm đã biết, quy trình đã biết và các kỹ thuật đã biết không được mô tả chi tiết.

Thuật ngữ được sử dụng, trong sáng chế, chỉ nhằm mục đích giải thích phương án cụ thể và thuật ngữ này không được coi là làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Như được sử dụng trong sáng chế, các thuật ngữ chỉ số ít có thể được dự định bao hàm có nghĩa số nhiều, trừ phi được chỉ ra rõ ràng theo cách khác.

Các thuật ngữ thứ nhất, thứ hai, thứ ba, v.v. không nên được hiểu là làm giới hạn phạm vi của sáng chế vì các thuật ngữ này chỉ có thể được sử dụng để phân biệt một yếu tố, thành phần, vùng, lớp hoặc phần này với thành phần, vùng, lớp hoặc phần khác. Các thuật ngữ như thứ nhất, thứ hai, thứ ba v.v. nếu được sử dụng ở đây không chỉ bao hàm trình tự hoặc thứ tự cụ thể trừ khi được chỉ ra rõ ràng bởi sáng chế. Sáng chế đề xuất chế phẩm miễn dịch và quy trình bào chế chúng.

Thuật ngữ "vacxin" có thể tùy ý được thay thế bằng thuật ngữ "chế phẩm miễn dịch" và ngược lại.

"Các đơn vị kháng nguyên D" (cũng được gọi là "đơn vị quốc tế" hoặc IU): Dạng kháng nguyên D của virus bại liệt tạo ra các kháng thể bảo vệ trung tính. Các đơn vị kháng nguyên D được đề cập ở đây (ví dụ trong các vacxin theo sáng chế) là tổng các đơn vị kháng nguyên D đo được của mỗi loại kháng nguyên IPV bán thành phẩm không hấp phụ trước khi bào chế vacxin cuối cùng mà được bổ sung vào mỗi liều vacxin bào chế dùng cho người (thông thường thể tích cuối là 0,5mL). Các

phương pháp đáng tin cậy để đo các đơn vị kháng nguyên D là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và được công bố, ví dụ bởi được điển châu Âu. Ví dụ, các đơn vị kháng nguyên D có thể được đo bằng thử nghiệm ELISA như được mô tả trong ví dụ 1 ("định lượng kháng nguyên D bằng ELISA") dưới đây. Dược điển châu Âu đề cập một mẫu thử nghiệm (European Pharmacopoeia Biological Reference Preparation - available from Ph. Eur. Secretariat, ví dụ Code P 216 0000) để chuẩn hóa các phương pháp này giữa các nhà sản xuất (Pharmeuropa Special Issue, Bio 96-2). Do đó, giá trị đơn vị kháng nguyên D là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Thuật ngữ "liều" ở đây thường là một lượng sử dụng của vacxin theo sáng chế, mà thường là một lần tiêm. Liều thường dùng cho người là 0,5mL. Dĩ nhiên các liều khác có thể được sử dụng trong phác đồ sử dụng vacxin.

Thuật ngữ "IPV" hoặc chế phẩm miễn dịch chứa các thành phần ở đây được hiểu là virus bại liệt đã bất hoạt typ 1 (ví dụ Mahoney, tốt hơn là được sử dụng), typ 2 (ví dụ MEF-1), hoặc typ 3 (ví dụ Saukett), hoặc hỗn hợp typ huyết thanh Sabin 1, 2, 3 của hai hoặc tất cả ba loại này. Một ví dụ về chế phẩm miễn dịch IPV dạng liều đầy đủ (hoặc chuẩn) (40-8-32 đơn vị kháng nguyên D của các typ IPV dựa trên Salk 1, 2 và 3 tương ứng) dùng cho các mục đích theo sáng chế có thể là Poliovac® (Serum Institute of India Pvt. Ltd.). Do đó, nếu sáng chế chỉ ra rằng liều IPV trên cơ sở Salk bị giảm (giảm) một, hai, ba lần so với liều chuẩn của nó có mặt trong chế phẩm miễn dịch theo sáng chế thì có nghĩa là lượng các đơn vị kháng nguyên D tương đương với X% của mức giảm liều của 40, 8, và/hoặc 32 đơn vị kháng nguyên D của IPV typ 1, 2 và/hoặc 3 tương ứng (như được đánh giá trong mỗi typ kháng nguyên IPV) được bào chế trong mỗi liều của vacxin này.

Thuật ngữ "sacarit" trong bản mô tả này có thể chỉ polysacarit hoặc oligosacarit và bao gồm cả hai. Kháng nguyên sacarit vô có thể là một polysacarit có chiều dài đầy đủ hoặc nó có thể được mở rộng đến "các sacarit đã định cỡ" và 'oligosacarit' của vi khuẩn (mà thường có số đơn vị lặp thấp, hoặc là các polysacarit được giảm kích cỡ để dễ thao tác, tuy nhiên vẫn có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch bảo vệ ở vật chủ.

Theo phương án thứ nhất của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp chứa một nhóm kháng nguyên/chất sinh miễn dịch được chọn từ nhưng không chỉ giới hạn ở giải độc tố bạch hầu (D), giải độc tố uốn ván (T), *B. pertussis* (wP) nguyên bào, thể tiếp hợp PRP-CP *Haemophilus influenzae* typ b (Hib), viêm gan B (HepB), liều giảm của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV) và còn chứa hỗn hợp của 2-phenoxyetanol và ít nhất một chất bảo quản este paraben.

Theo phương án thứ hai của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp có thể còn chứa một hoặc nhiều kháng nguyên được chọn từ nhóm bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các kháng nguyên *Haemophilus influenzae* (các typ huyết thanh a, c, d, e, f và các chủng không được bao nang), viêm gan (các chủng A, C, D, E, F và G), *Neisseria meningitidis* A, B, C, Y, W-135, hoặc X, *Influenza*, *Staphylococcus aureus*, (các) kháng nguyên *Salmonella typhi*, kháng nguyên ho gà vô bào, adenylat xyclaza đã cải biến, kháng nguyên sốt rét (RTS,S), Pneumococci, Streptococci, kháng nguyên bệnh than, dengue, kháng nguyên sốt rét, sởi, quai bị, rubella, BCG, virus gây u nhú ở người, viêm não Nhật Bản, Dengue, Zika, Ebola, Chikungunya, Rotavirus, đậu mùa, sốt vàng, Flavivirus, Zona, virus thủy đậu tương ứng.

Theo phương án thứ ba của sáng chế, các chủng IPV được sử dụng trong chế phẩm vacxin kết hợp chứa các chủng Sabin đã bất hoạt được chọn từ nhóm bao gồm typ 1, typ 2, và typ 3 hoặc các chủng Salk đã bất hoạt được chọn từ nhóm bao gồm Mahoney typ 1, MEF typ 2 và Saukett typ 3.

Theo một trong số các khía cạnh của phương án thứ ba, virus bại liệt có thể được nuôi cấy bằng phương pháp sau:

- Dòng tế bào CCL81-VERO (Thận khỉ) được sử dụng làm các tế bào chủ để nuôi cấy virus bại liệt tức là các chủng Sabin và Salk.
- Sau khi gây nhiễm các tế bào chủ bằng chủng mong muốn của virus bại liệt và ủ trong 72 giờ, môi trường chứa virus và mảnh vỡ tế bào được gộp và thu gom trong một đồ chứa.
- Dịch lọc được lọc theo dòng tiếp tuyến với catxet 100KDa; lọc thẩm tách bằng dung dịch đệm phosphat và tinh chế bằng sắc ký trao đổi anion.

- Trước khi sử dụng cho bệnh nhân, các virus phải được bất hoạt bằng cách sử dụng phương pháp bất hoạt thích hợp.

Tuy nhiên, các tác giả sáng chế đã ngạc nhiên phát hiện ra rằng nguyên nhân dẫn đến tỷ lệ phần trăm hao hụt kháng nguyên D cao sau khi bất hoạt bằng formaldehyt có thể là do sự có mặt của dung dịch đệm phosphat đã vô tình gây ra sự kết tụ các hạt virus bại liệt không mong muốn.

Do đó, một khía cạnh quan trọng của sáng chế đề xuất, quy trình bất hoạt bằng formalin cải tiến bao gồm các bước sau:

- a) Nhóm virus đã tinh chế được trao đổi đệm từ dung dịch đệm phosphat thành dung dịch đệm Tris với nồng độ nằm trong khoảng (30 đến 50mM) có độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 7,5,
- b) Bổ sung vào hỗn hợp trên môi trường M-199 chứa glyxin (5gm/l)
- c) Bổ sung 0,025% formaldehyt và sau đó trộn,
- d) Sau đó ủ hỗn hợp này ở nhiệt độ 37°C trong 5 đến 13 ngày kèm khuấy liên tục bán thành phẩm virus trên thanh khuấy từ,
- e) Hỗn hợp sau ủ được đưa vào hệ thống TFF trung gian (100 KDa, 0,1 m²) vào ngày thứ 7 và lọc lần cuối sau khi bất hoạt
- f) Sau đó bán thành phẩm đã lọc được bảo quản ở 2-8°C,
- g) tiến hành D-Ag ELISA để xác định đơn vị D-Ag

Theo phương án thứ tư của sáng chế, các chủng IPV được sử dụng trong chế phẩm vaccine kết hợp chứa các chủng Sabin đã bất hoạt được giảm liều được chọn từ nhóm bao gồm typ 1, typ 2, và typ 3 hoặc các chủng Salk đã bất hoạt được chọn từ nhóm bao gồm Mahoney typ 1, MEF typ 2 và Saukett typ 3.

Theo phương án thứ năm của sáng chế, IPV (các chủng Sabin hoặc Salk) có thể không được hấp phụ riêng lên tá dược bất kỳ và sau đó bổ sung vào chế phẩm vaccine kết hợp cuối cùng.

Theo một khía cạnh được ưu tiên trong phương án thứ năm, IPV (Các chủng Sabin hoặc Salk) có thể được hấp phụ lên tá dược tốt hơn là muối nhôm phosphat hoặc hydroxit có mặt trong vaccin kết hợp trong đó tỷ lệ phần trăm hấp phụ của kháng nguyên IPV đối với IPV typ 1 có thể nằm trong khoảng từ 10 đến 30%, IPV typ 2 có thể nằm trong khoảng từ 60 đến 100% và IPV typ 3 có thể nằm trong khoảng từ 0 đến 25%.

Theo phương án thứ sáu của sáng chế, (các) thành phần IPV (Các chủng Sabin hoặc Salk) có thể được hấp phụ riêng lên tá dược được chọn từ nhóm bao gồm muối nhôm (Al^{3+}) như nhôm hydroxit ($\text{Al}(\text{OH})_3$) hoặc nhôm phosphat (AlPO_4), nhôm, canxi phosphat, MPLA, 3D-MPL, QS21, tá dược oligodeoxynucleotit chứa CpG, liposom, hoặc nhũ tương dầu trong nước hoặc hỗn hợp của chúng. (ví dụ trước khi hoặc sau khi trộn với các thành phần khác nếu có mặt). Nếu được hấp phụ, một hoặc nhiều thành phần IPV có thể được hấp phụ riêng hoặc cùng với nhau dưới dạng hỗn hợp trên nhôm hydroxit ($\text{Al}(\text{OH})_3$) hoặc nhôm phosphat.

(Các) thành phần IPV (Các chủng Sabin hoặc Salk) có thể được hấp phụ lên muối nhôm bằng quy trình sau:

- Lấy một thể tích mong muốn của $\text{Al}(\text{PO})_4$ hoặc $\text{Al}(\text{OH})_3$ đã thanh trùng để thu được nồng độ nhôm cuối cùng (Al^{3+}) nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,8 mg/liều trong đồ chứa có dung tích 50 ml
- Bổ sung đơn vị D-Ag đã điều chỉnh vào bán thành phẩm IPV và bổ sung cho đủ thể tích bằng chất pha loãng (10x M-199+ 0,5% glyxin),
- Điều chỉnh độ pH của chế phẩm cuối và thu được chế phẩm cuối có độ pH nằm trong khoảng từ 6 đến 7,5.

Theo một khía cạnh của phương án thứ sáu, việc hấp phụ IPV đã bất hoạt bằng formalin có thể được tiến hành trên nhôm (Al^{3+}) có nồng độ được chọn từ nhóm bao gồm 0,1mg/liều, 0,2mg/liều, 0,3mg/liều, 0,4mg/liều, 0,5mg/liều, 0,6mg/liều, 0,7mg/liều và 0,8mg/liều, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,1mg/liều

đến 1,25mg/liều mỗi typ huyết thanh và ở độ pH được chọn từ 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7 và 6,8 tốt hơn là 6,5.

Theo một khía cạnh khác của phương án thứ sáu, tỷ lệ thu hồi kháng nguyên D sau khi bất hoạt bằng formalin khi có mặt Tris có thể là 50%, 60%, 70% hoặc 80% và tỷ lệ phần trăm hấp phụ sau khi hấp phụ trên nhôm phosphat có thể nằm trong khoảng từ 70% đến 80%, 80% đến 90% hoặc 90% đến 99% hoặc 95% đến 99%.

Theo phương án thứ bảy của sáng chế, độc tố bạch hầu (ngoại độc tố) và độc tố uốn ván (ngoại độc tố) có nguồn gốc từ *Corynebacterium Diphtheria* và *Clostridium tetani* tương ứng và sau đó được giải độc tố bằng phương pháp làm bất hoạt thích hợp. Nhờ đó, giải độc tố bạch hầu (D) và giải độc tố uốn ván (T) thu được có thể được tinh chế bằng sắc ký lọc gel. DT đã tinh chế thu được như vậy được sử dụng tiếp cho chế phẩm vacxin kết hợp.

Theo một khía cạnh của phương án thứ bảy, độc tố bạch hầu được tạo ra bằng cách nuôi cấy *Corynebacterium diphtheriae* trong môi trường bán tổng hợp chứa các thành phần sau ở các nồng độ tối ưu ở dạng hỗn hợp bất kỳ trong số các hỗn hợp sau:

Hỗn hợp 1:

Casein Hydrolysate, Maltoza Monohydrate, Axit axetic băng, Natri lactat, Magie Sulphat, β -alanin, Axit Pimelic, Axit Nicotinic, Đồng (II) sulphat, Kẽm Sulphat, Mangan (II) Clorua, L – Xystein, Canxi Clorua Dihydrat, Kali Dihydro Orthophosphat, Di Kali Hydro Phosphat, Sắt (II) Sulphat và WFI.

Hỗn hợp 2:

Casein Hydrolysate, Maltoza Monohydrate, Axit axetic băng, Natri lactat, Magie Sulphat, β -alanin, Axit Pimelic, Axit Nicotinic, Mangan (II) Clorua, L – Xystein, Canxi Clorua Dihydrat, Kali Dihydro Orthophosphat, Di Kali Hydro Phosphat, Sắt (II) Sulphat và WFI.

Hỗn hợp 3:

Casein Hydrolysat, Maltoza Monohydrat, Axit axetic băng, Natri lactat, β -alanin, Axit Pimelic, Axit Nicotinic, Đồng (II) sulphat, Kẽm Sulphat, Mangan (II) Clorua, L – Xystein, Canxi Clorua Dihydrat, Kali Dihydro Orthophosphat, Di Kali Hydro Phosphat, và WFI.

Hỗn hợp 4:

Dịch chiết nấm men, Maltoza Monohydrat, Axit axetic băng, Natri lactat, Magie Sulphat, β -alanin, Axit Pimelic, Axit Nicotinic, Đồng (II) sulphat, Kẽm Sulphat, Mangan (II) Clorua, L – Xystein, Canxi Clorua Dihydrat, Kali Dihydro Orthophosphat, Di Kali Hydro Phosphat, Sắt (II) Sulphat và WFI.

Theo một khía cạnh thứ hai của phương án thứ bảy, độc tố uốn ván được tạo ra bằng cách nuôi cấy *Clostridium tetanus* trong môi trường bán tổng hợp chứa các thành phần sau ở nồng độ tối ưu trong một trong các hỗn hợp sau:

Hỗn hợp 1:

Dịch phân cắt casein, Canxi Clorua, Di Kali Hydro Phosphat, Dextroza khan, Natri clorua, Magie sulfat, Riboflavin, Thiamin hydroclorua, Pyridoxin hydroclorua, Canxi pantothenat, Axit Nicotinic, L-Xystein, Sắt (III) clorua, dung dịch vitamin B12, Biotin, HCl đậm đặc, NaOH, Etanol tuyệt đối, và WFI.

Hỗn hợp 2:

Dịch phân cắt casein, Canxi Clorua, β -alanin Di Kali Hydro Phosphat, Dextroza khan, Natri clorua, Magie sulfat, Sắt (II) Sulphat, Riboflavin, Thiamin hydroclorua, Pyridoxin hydroclorua, Canxi pantothenat, Axit Nicotinic, L-Xystein, Sắt (III) clorua, dung dịch vitamin B12, Biotin, HCl đậm đặc, NaOH, etanol tuyệt đối, và WFI.

Hỗn hợp 3:

Dịch phân cắt casein, Canxi Clorua, Di Kali Hydro Phosphat, Dextroza khan, Natri clorua, Kẽm Sulphat, Riboflavin, Thiamin hydroclorua, Pyridoxin

hydroclorua, Canxi pantothenat, Axit Nicotinic, L-Xystein, Sắt (III) clorua, dung dịch vitamin B12, Biotin, HCl đậm đặc, NaOH, etanol tuyệt đối, và WFI.

Hỗn hợp 4:

Casein Hydrolysate, Canxi Clorua, Di Kali Hydro Phosphat, Dextroza khan, Natri clorua, Magie sulfat, Mangan (II) Clorua Riboflavin, Thiamin hydroclorua, Pyridoxin hydroclorua, Canxi pantothenat, Axit Nicotinic, L-Xystein, Sắt (III) clorua, dung dịch vitamin B12, Biotin, HCl đậm đặc, NaOH, Etanol tuyệt đối, và WFI.

Theo một khía cạnh khác của phương án thứ bảy, độc tố bạch hầu và uốn ván được giải độc tố bằng cách sử dụng một trong số các phương pháp hoặc kết hợp các phương pháp bất hoạt sau bao gồm bất hoạt bằng nhiệt, bằng UV, Formalin/Formaldehyt, Axetyetylenimin, v.v..

Theo khía cạnh thứ tám của sáng chế, kháng nguyên viêm gan (Hep) được sử dụng trong chế phẩm vắc xin kết hợp bao gồm các kháng nguyên viêm gan có nguồn gốc từ bề mặt của chủng Viêm gan B (HBsAg).

Theo một khía cạnh của phương án thứ chín, HBsAg có thể thu được bằng một trong số các phương pháp sau:

- Tinh chế kháng nguyên ở dạng cụ thể từ huyết tương chứa các chất mang viêm gan B, vì một lượng lớn HBsAg được tổng hợp trong gan và được giải phóng vào máu trong quá trình lây nhiễm HBV
- Biểu hiện protein bằng các phương pháp ADN tái tổ hợp

Theo phương án thứ chín của sáng chế, giải độc tố bạch hầu (D), giải độc tố uốn ván (T), kháng nguyên bề mặt viêm gan B (HBsAg) được hấp phụ riêng lên tá dược được chọn từ nhóm bao gồm muối nhôm (Al^{3+}) như nhôm hydroxit ($Al(OH)_3$) hay nhôm phosphat ($AlPO_4$), nhôm, canxi phosphat, MPLA, 3D-MPL, QS21, tá dược oligodeoxynucleotit chứa CpG, liposom, hoặc nhũ tương dầu trong nước hoặc hỗn hợp của chúng.

Tốt hơn là giải độc tố bạch hầu (D), giải độc tố uốn ván (T) và kháng nguyên bề mặt viêm gan B (HBsAg) được hấp phụ riêng lên nhôm phosphat.

Theo một khía cạnh của phương án thứ chín, kháng nguyên giải độc tố bạch hầu (D) được hấp phụ lên nhôm phosphat có tỷ lệ phần trăm hấp phụ ít nhất là 50%.

Theo khía cạnh khác của phương án thứ chín, kháng nguyên giải độc tố uốn ván (T) được hấp phụ lên nhôm phosphat có tỷ lệ phần trăm hấp phụ ít nhất là 40%.

Theo một khía cạnh khác của phương án thứ chín, kháng nguyên bề mặt viêm gan B (HBsAg) hấp phụ lên nhôm phosphat có tỷ lệ phần trăm hấp phụ ít nhất là 70%.

Theo phương án thứ mười của sáng chế, kháng nguyên Hib được sử dụng trong vacxin kết hợp theo sáng chế có nguồn gốc từ polysaccharit vỏ của *Haemophilus influenzae* typ b (Hib) chủng 760705.

Theo một khía cạnh của phương án thứ mười, kháng nguyên Hib PRP được tiếp hợp với protein mang được chọn từ nhóm bao gồm protein mang bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở CRM197, giải độc tố bạch hầu, phức hợp màng ngoài của *Neisseria meningitidis*, mảnh C của giải độc tố uốn ván, giải độc tố ho gà, protein D của *H. influenzae*, *E. coli* LT, *E. coli* ST, và ngoại độc tố A từ *Pseudomonas aeruginosa*, phức hợp màng ngoài c (OMPC), porin, protein gắn kết với transferrin, pneumolysin, protein A bề mặt của phế cầu khuẩn (pneumococcal surface protein A-PspA), adhesin A bề mặt của phế cầu khuẩn (PsaA), PhtD của phế cầu khuẩn, các protein bề mặt BVH-3 và BVH-11 của phế cầu khuẩn, kháng nguyên bảo vệ (PA) của *Bacillus anthracis* và yếu tố gây phù đã giải độc tố (EF) và yếu tố gây chết (LF) của *Bacillus anthracis*, albumin trứng, hemoxyanin từ con sao sao có lỗ khóa (KLH), albumin huyết thanh người, albumin huyết thanh bò (bovine serum albumin-BSA) và dẫn xuất protein đã tinh chế của tuberculin (PPD), các peptit tổng hợp, protein sốc nhiệt, protein ho gà, xytokin, lymphokin, hocmon, các yếu tố tăng trưởng, protein nhân tạo gồm nhiều epitop tế bào T CD4⁺ của người từ các kháng nguyên có nguồn gốc từ tác nhân gây bệnh khác nhau như N 19, protein hấp thu sắt, các protein độc tố A hoặc B từ *C. difficile* và *S. agalactiae*.

Tốt hơn là Hib PRP được tiếp hợp với giải độc tố uốn ván (TT). Theo hóa học CNBr, hóa học amin hóa khử, hóa học xyanyl hóa hoặc hóa học khác bất kỳ đã được bộc lộ trong tài liệu Kniskern et al., “Conjugation: design, chemistry, và analysis” in Ellis et al., Development and clinical uses of *Haemophilus influenzae* typ b conjugate vaccines. New York: Marcel Dekker, 1994: 37-69

Theo khía cạnh thứ hai của phương án thứ mười, protein mang có mặt ở cả dạng tự do và dạng được tiếp hợp trong chế phẩm theo sáng chế, tốt hơn là tổng lượng dạng không được tiếp hợp chiếm không quá 20% của tổng lượng protein mang trong chế phẩm, và tốt hơn nữa là có mặt với lượng nhỏ hơn 5% khối lượng.

Theo khía cạnh thứ ba của phương án thứ mười, kháng nguyên Hib hầu như không hấp phụ lên tá được bất kỳ.

Theo khía cạnh thứ tư của phương án thứ mười, kháng nguyên Hib có thể không được hấp phụ một cách cố ý hay có chủ đích lên tá được bất kỳ.

Theo khía cạnh thứ năm của phương án thứ mười, tỷ lệ phần trăm hấp phụ của kháng nguyên Hib lên tá được bất kỳ là nhỏ hơn 20%.

Theo phương án thứ mười một của sáng chế, chế phẩm kháng nguyên ho gà nguyên bào (wP) được sử dụng trong chế phẩm vacxin kết hợp theo sáng chế tốt hơn là có nguồn gốc từ các chủng *Bordetella pertussis* 134, 509, 25525 và 6229 được trộn theo tỷ lệ cụ thể và sau đó được làm bất hoạt bằng cách sử dụng các phương pháp bất hoạt cải tiến không có thiomersal do đó làm giảm khả năng gây phản ứng và làm tăng hiệu quả và kháng nguyên wP có thể có hoặc không được hấp phụ lên tá được trên cơ sở nhôm.

Theo một khía cạnh của phương án thứ mười một, chế phẩm kháng nguyên ho gà nguyên bào (wP) được sử dụng trong chế phẩm vacxin kết hợp theo sáng chế tốt hơn là có nguồn gốc từ các chủng *Bordetella pertussis* 134, 509, 25525 và 6229 được trộn theo tỷ lệ 1:1:0,25:0,25.

Theo khía cạnh thứ hai của phương án thứ mười một, chế phẩm kháng nguyên ho gà nguyên bào (wP) được sử dụng trong chế phẩm vacxin kết hợp được

làm bất hoạt sử dụng một hoặc nhiều phương pháp xử lý bất hoạt sau mà bao gồm phương pháp sử dụng nhiệt, UV, Formalin /Formaldehyt, Axetyetylenimin, etc.

Tốt hơn nữa là chế phẩm kháng nguyên ho gà nguyên bào (wP) được sử dụng trong chế phẩm vaccin kết hợp được làm bất hoạt bằng cách kết hợp cả phương pháp xử lý bằng nhiệt và phương pháp xử lý hóa học. Tốt hơn nữa là, bất hoạt bằng nhiệt ở nhiệt độ $56\pm 2^{\circ}\text{C}$, trong khoảng thời gian từ 10 đến 15 phút khi có mặt formaldehyt trong đó, bán thành phẩm wP không bị kết khối và nhờ đó dễ dàng được đồng nhất dẫn đến làm giảm khả năng gây phản ứng và đem lại hiệu quả wP tốt hơn trong một thời gian dài.

Theo khía cạnh thứ ba của phương án thứ mười một, chế phẩm kháng nguyên ho gà nguyên bào (wP) được sử dụng trong chế phẩm vaccin kết hợp có thể được hấp phụ hoặc không được hấp phụ lên tá dược trên cơ sở nhôm như nhôm hydroxit, nhôm phosphat hoặc hỗn hợp của chúng (ví dụ trước khi hoặc sau khi trộn với các thành phần khác nếu có mặt). Nếu được hấp phụ, một hoặc nhiều chủng wP (tức là 134, 509, 25525 và 6229) có thể được hấp phụ riêng hoặc cùng nhau dưới dạng hỗn hợp.

Theo phương án thứ mười hai của sáng chế, chế phẩm vaccin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 1			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 μg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 μg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 μg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 μg PRP
6	Typ huyết thanh chủng Sabin của virus bại liệt đã		

	bất hoạt (IPV)		
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 5 hoặc 10 hoặc 20 DU
	Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 4 hoặc 16 DU
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg
9	Metylparaben	0,1 – 1,5 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,7 hoặc 0,9 hoặc 1 mg
10	Propylparaben	0,05 – 0,2 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,05 hoặc 0,1 hoặc 0,15 mg

Theo phương án thứ mười ba của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 2			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 μ g	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 μ g
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 μ g PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 μ g PRP
6	Typ huyết thanh của chủng Salk của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Mahoney Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 7,5 hoặc 10 hoặc 20 hoặc 40 DU
	MEF-1 Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 1,5 hoặc 2 hoặc 4 hoặc 8 DU
	Saukett Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63

8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg
9	Metylparaben	0,1 – 1,5 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,7 hoặc 0,9 hoặc 1 mg
10	Propylparaben	0,05 – 0,2 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,05 hoặc 0,1 hoặc 0,15 mg

Theo phương án thứ mười bốn của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 3			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh chủng Sabin của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 5 hoặc 10 hoặc 20 DU
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al ³⁺) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg
9	Metylparaben	0,1 – 1,5 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,7 hoặc 0,9 hoặc 1 mg
10	Propylparaben	0,05 – 0,2 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,05 hoặc 0,1 hoặc 0,15 mg

Theo phương án thứ mười lăm của sáng chế, chế phẩm vaccin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 4			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh của chủng Salk của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Mahoney Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 7,5 hoặc 10 hoặc 20 hoặc 40 DU
	Saukett Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al ³⁺) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg
9	Metylparaben	0,1 – 1,5 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,7 hoặc 0,9 hoặc 1 mg
10	Propylparaben	0,05 – 0,2 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,05 hoặc 0,1 hoặc 0,15 mg

Theo phương án thứ mười sáu của sáng chế, chế phẩm vaccin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 5			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2

			hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh chủng Sabin của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 5 hoặc 10 hoặc 20 DU
	Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 4 hoặc 16 DU
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al ³⁺) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg
9	Metylparaben	0,1 – 1,5 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,7 hoặc 0,9 hoặc 1 mg

Theo phương án thứ mười bảy của sáng chế, chế phẩm vaccin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 6			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh của chủng Salk của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Mahoney Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 7,5 hoặc 10 hoặc 20 hoặc 40 DU

	MEF-1 Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 1,5 hoặc 2 hoặc 4 hoặc 8 DU
	Saukett Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg
9	Metylparaben	0,1 – 1,5 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,7 hoặc 0,9 hoặc 1 mg

Theo phương án thứ mười tám của sáng chế, chế phẩm vaccin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 7			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 μ g	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 μ g
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 μ g PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 μ g PRP
6	Typ huyết thanh chủng Sabin của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 5 hoặc 10 hoặc 20 DU
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg
9	Metylparaben	0,1 – 1,5 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,7 hoặc 0,9 hoặc 1 mg

Theo phương án thứ mười chín của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 8			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh của chủng Salk của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Mahoney Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 7,5 hoặc 10 hoặc 20 hoặc 40 DU
	Saukett Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al ³⁺) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg
9	Metylparaben	0,1 – 1,5 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,7 hoặc 0,9 hoặc 1 mg

Theo phương án thứ hai mươi của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 9			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức

	bất hoạt (wP)		12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh chủng Sabin của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 5 hoặc 10 hoặc 20 DU
	Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 4 hoặc 16 DU
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al ³⁺) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg
9	Propylparaben	0,05 – 0,2 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,05 hoặc 0,1 hoặc 0,15 mg

Theo phương án thứ hai mươi một của sáng chế, chế phẩm vaccin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 10			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh của chủng Salk của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Mahoney Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 7,5 hoặc 10 hoặc 20 hoặc 40 DU
	MEF-1 Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 1,5 hoặc 2 hoặc 4 hoặc 8 DU

	Saukett Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg
9	Propylparaben	0,05 – 0,2 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,05 hoặc 0,1 hoặc 0,15 mg

Theo phương án thứ hai mươi hai của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 11			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh chủng Sabin của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 5 hoặc 10 hoặc 20 DU
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg
9	Propylparaben	0,05 – 0,2 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,05 hoặc 0,1 hoặc 0,15 mg

Theo phương án thứ hai mươi ba của sáng chế, chế phẩm vaccin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 12			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh của chủng Salk của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Mahoney Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 7,5 hoặc 10 hoặc 20 hoặc 40 DU
	Saukett Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al ³⁺) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg
9	Propylparaben	0,05 – 0,2 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,05 hoặc 0,1 hoặc 0,15 mg

Theo phương án thứ hai mươi bốn của sáng chế, chế phẩm vaccin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 13			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức

	bất hoạt (wP)		12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh chủng Sabin của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 5 hoặc 10 hoặc 20 DU
	Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 4 hoặc 16 DU
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al ³⁺) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	Metylparaben	0,1 – 1,5 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,7 hoặc 0,9 hoặc 1 mg
9	Propylparaben	0,05 – 0,2 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,05 hoặc 0,1 hoặc 0,15 mg

Theo phương án thứ hai mươi lăm của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 14			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh của chủng Salk của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Mahoney Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 7,5 hoặc 10 hoặc 20 hoặc 40 DU
	MEF-1 Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 1,5 hoặc 2 hoặc 4 hoặc 8 DU

	Saukett Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	Metylparaben	0,1 – 1,5 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,7 hoặc 0,9 hoặc 1 mg
9	Propylparaben	0,05 – 0,2 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,05 hoặc 0,1 hoặc 0,15 mg

Theo phương án thứ hai mươi sáu của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 15			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 μ g	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 μ g
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 μ g PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 μ g PRP
6	Typ huyết thanh chủng Sabin của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 5 hoặc 10 hoặc 20 DU
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	Metylparaben	0,1 – 1,5 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,7 hoặc 0,9 hoặc 1 mg
9	Propylparaben	0,05 – 0,2 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,05 hoặc 0,1 hoặc 0,15 mg

Theo phương án thứ hai mươi bảy của sáng chế, chế phẩm vaccin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 16			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh của chủng Salk của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Mahoney Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 7,5 hoặc 10 hoặc 20 hoặc 40 DU
	Saukett Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al ³⁺) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	Metylparaben	0,1 – 1,5 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,7 hoặc 0,9 hoặc 1 mg
9	Propylparaben	0,05 – 0,2 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 0,05 hoặc 0,1 hoặc 0,15 mg

Theo phương án thứ hai mươi tám của sáng chế, chế phẩm vaccin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 17			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức

	bất hoạt (wP)		12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh chủng Sabin của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 5 hoặc 10 hoặc 20 DU
	Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 4 hoặc 16 DU
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al ³⁺) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg

Theo phương án thứ hai mươi chín của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 18			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh của chủng Salk của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Mahoney Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 7,5 hoặc 10 hoặc 20 hoặc 40 DU
	MEF-1 Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 1,5 hoặc 2 hoặc 4 hoặc 8 DU
	Saukett Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32 DU

7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg

Theo phương án thứ ba mươi của sáng chế, chế phẩm vaccin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 19			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 μ g	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 μ g
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 μ g PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 μ g PRP
6	Typ huyết thanh chủng Sabin của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 5 hoặc 10 hoặc 20 DU
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg

Theo phương án thứ ba mươi một của sáng chế, chế phẩm vaccin kết hợp đa liều chứa:

Bảng 20			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)

1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh của chủng Salk của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Mahoney Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 7,5 hoặc 10 hoặc 20 hoặc 40 DU
	Saukett Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al ³⁺) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
8	2-Phenoxyetanol	1 - 6 mg	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 2,5 hoặc 3 mg

Theo phương án thứ ba mươi hai của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp đơn liều cuối cùng chứa:

Bảng 21			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh chủng Sabin của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 5 hoặc 10 hoặc 20 DU
	Typ 2 (Các đơn vị kháng	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 8

	nguyên D)		hoặc 4 hoặc 16 DU
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63

Theo phương án thứ ba mươi ba của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp đơn liều cuối cùng chứa:

Bảng 22			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 μ g	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 μ g
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 μ g PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 μ g PRP
6	Typ huyết thanh của chủng Salk của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Mahoney Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 7,5 hoặc 10 hoặc 20 hoặc 40 DU
	MEF-1 Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 1,5 hoặc 2 hoặc 4 hoặc 8 DU
	Saukett Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63

Theo phương án thứ ba mươi tư của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp đơn liều cuối cùng chứa:

Bảng 23			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)

1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh chủng Sabin của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 5 hoặc 10 hoặc 20 DU
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 16 hoặc 32 DU
7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63

Theo phương án thứ ba mươi lăm của sáng chế, chế phẩm vacxin kết hợp đơn liều cuối cùng chứa:

Bảng 24			
Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Đơn vị kháng nguyên/0,5ml liều	Đơn vị kháng nguyên được ưu tiên/0,5ml liều (Trong hỗn hợp bất kỳ)
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10-25 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 10 hoặc 20 hoặc 25 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02-10 Lf	Tốt hơn là một trong số các mức 2 hoặc 4 hoặc 10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12-16 IOU	Tốt hơn là một trong số các mức 12 hoặc 14 hoặc 16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	7-15 µg	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	7-13 µg PRP	Tốt hơn là một trong số các mức 8 hoặc 10 hoặc 13 µg PRP
6	Typ huyết thanh của chủng Salk của virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)		
	Mahoney Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 7,5 hoặc 10 hoặc 20 hoặc 40 DU
	Saukett Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1 – 50 DU	Tốt hơn là một trong số các mức 6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32 DU

7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	0,1 – 0,6 mg	Tốt hơn là NMT 0,3 hoặc NMT 0,55 hoặc NMT 0,63
---	---	--------------	--

NMT – không quá

Theo phương án thứ ba mươi sáu của sáng chế, một hoặc nhiều kháng nguyên trong chế phẩm vacxin kết hợp cuối cùng có thể hầu như không được hấp phụ lên tá dược bất kỳ.

Theo phương án thứ ba mươi bảy của sáng chế, độ pH của chế phẩm miễn dịch có thể nằm trong khoảng từ pH 6,0 đến pH 8,0; tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ pH 6,0 đến pH 7,5; tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ pH 6,2 đến pH 7,2; và tốt nhất là nằm trong khoảng từ pH 6,3 đến pH 6,8.

Theo phương án thứ ba mươi tám của sáng chế, chế phẩm miễn dịch có thể chứa thêm chất đệm được chọn từ nhóm bao gồm cacbonat, phosphat, axetat, succinat, borat, xitrat, lactat, gluconat và tartrat, cũng như là các chất đệm hữu cơ phức tạp hơn bao gồm chất đệm phosphat mà chứa natri phosphat và/hoặc kali phosphat với tỷ lệ được chọn để đạt được pH mong muốn. Theo một ví dụ khác, chất đệm chứa Tris (hydroxymetyl) aminometan, hoặc "Tris", được điều chế để thu được độ pH mong muốn. Theo một ví dụ khác, chất đệm có thể là môi trường cần thiết tối thiểu với các muối Hanks. Các chất đệm khác, như HEPES, piperazin-N, N'-bis (PIPES), và axit 2-etansulfonic (MES) cũng được dự tính bởi sáng chế. Chất đệm giúp làm ổn định chế phẩm miễn dịch theo sáng chế. Nồng độ của chất đệm có thể nằm trong khoảng từ 0,1 mM đến 100 mM, tốt hơn là được chọn từ 5mM, 6mM, 7mM, 22 mM, 23mM, 24mM, 25mM, 26mM, 27mM, 28mM, 29mM và 30mM.

Theo một khía cạnh khác của phương án này, chế phẩm miễn dịch có thể chứa thêm các tá dược được chọn từ nhóm bao gồm chất hoạt động bề mặt, polyme và muối. Ví dụ về chất hoạt động bề mặt có thể bao gồm chất hoạt động bề mặt không ion như polysorbat 20, polysorbat 80, v.v.. Ví dụ về các polyme có thể bao gồm dextran, carboxymetyl xenluloza, axit hyaluronic, xyclodextrin, v.v.. Ví dụ về các muối có thể bao gồm NaCl, KCl, KH_2PO_4 , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,

CaCl_2 , MgCl_2 , v.v.. Tốt hơn là, muối này có thể là NaCl . Thông thường lượng muối này có thể nằm trong khoảng từ 100 mM đến 200 mM.

Axit amin, như Histidin, glyxin, arginin và lysin có thể được bổ sung để làm ổn định chế phẩm miễn dịch.

Theo phương án thứ ba mươi chín theo sáng chế, chế phẩm miễn dịch có thể chứa thêm một hoặc nhiều tá dược được chọn từ nhóm bao gồm muối nhôm (Al^{3+}) như nhôm hydroxit ($\text{Al}(\text{OH})_3$) hoặc nhôm phosphat (AlPO_4), nhôm, canxi phosphat, MPLA, 3D-MPL, QS21, tá dược oligodeoxynucleotit chứa CpG, liposom, hoặc nhũ tương dầu trong nước.

Tốt hơn là, chế phẩm chứa nhôm phosphat (AlPO_4) làm tá dược.

Tốt hơn là, chế phẩm chứa nhôm hydroxit ($\text{Al}(\text{OH})_3$) làm tá dược.

Theo một khía cạnh của phương án thứ ba mươi chín, các kháng nguyên trong chế phẩm cuối có thể được hấp phụ tại chỗ lên gel nhôm phosphat hoặc gel nhôm phosphat đã điều chế sẵn hoặc hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh được ưu tiên của phương án thứ ba mươi chín, chế phẩm theo sáng chế có thể chứa tá dược với lượng 2,5 mg/0,5 ml hoặc ít hơn, và cụ thể là, với lượng nằm trong khoảng từ 1,5 mg/0,5 ml đến 0,1 mg/0,5 ml.

Theo phương án thứ bốn mươi theo sáng chế, chế phẩm miễn dịch có thể chứa thêm thành phần kích thích miễn dịch được chọn từ nhóm bao gồm nhũ tương dầu và nước, MF-59, liposom, lipopolysaccharit, saponin, lipit A, dẫn xuất lipit A, Monophosphoryl lipit A, monophosphoryl lipit được deaxylat hóa ở vị trí 3, AS01, AS03, oligonucleotit, oligonucleotit chứa ít nhất một CpG không được metyl hóa và/hoặc liposom, tá dược Freund, tá dược đầy đủ Freund, tá dược không đầy đủ Freund, polyme, co-polyme như copolyme polyoxyetylen-polyoxypropylen, kể cả co-polyme khối, polyme p 1005, tá dược CRL-8300, muramyl dipeptit, chất chủ vận TLR-4, flagellin, flagelli có nguồn gốc từ vi khuẩn gram âm, chất chủ vận TLR-5, các mảnh flagellin có khả năng gắn kết với thụ thể TLR-5, Alpha-C-galactosylxeromit, Chitosan, Intolokin-2, QS-21, ISCOMS, hỗn hợp squalen (SAF-

1), Quil A, tiểu đơn vị của độc tố B gây bệnh tả, polyphosphazen và các dẫn xuất, chế phẩm thành tế bào của vi khuẩn hiếu khí gram dương hình que, các dẫn xuất của axit mycolic, chất hoạt động bề mặt copolyme khối không ion, OMV, fHbp, hỗn hợp saponin với sterol và lipit.

Theo phương án thứ bốn mươi một của sáng chế, chế phẩm miễn dịch có thể còn chứa chất bảo quản được chọn từ nhóm bao gồm Benzethoni clorua (Phemerol), Phenol, m-cresol, Thiomersal, Formaldehyt, benzalkoni clorua, rượu benzylic, clobutanol, p-chlor-m-cresol, hoặc rượu benzylic hoặc hỗn hợp của chúng. Chế phẩm vaccin có thể chứa chất bảo quản để gây miễn dịch một lần, hoặc có thể chứa chất bảo quản để gây miễn dịch nhiều lần (tức là, kit 'đa liều'). Việc bao gồm chất bảo quản được ưu tiên trong các chế phẩm đa liều. Theo một phương án khác (hoặc ngoài ra) về việc bao gồm chất bảo quản trong các chế phẩm đa liều, các thành phần có thể được đựng trong đồ chứa có bộ chuyển đổi vô trùng để loại bỏ nguyên liệu. Thông thường lượng chất bảo quản có thể nằm trong khoảng từ 0,1 mg đến 50 mg.

Theo phương án thứ bốn mươi hai của sáng chế, chế phẩm miễn dịch có thể còn chứa các chất bổ trợ như chất làm ẩm hoặc chất nhũ hóa, chất đệm pH, chất tạo gel hoặc làm tăng độ nhớt, chất điều vị, chất màu và chất tương tự tùy thuộc vào đường dùng và dạng chế phẩm mong muốn.

Theo phương án thứ bốn mươi ba của sáng chế, chế phẩm miễn dịch có thể là dạng lỏng hoàn toàn nhưng không giới hạn ở dạng này. Dạng chế phẩm lỏng thích hợp có thể bao gồm dung dịch, hỗn dịch, nhũ tương, siro, dung dịch chứa nước đẳng trương, các chế phẩm nhót và còn ngọt được đệm đến độ pH mong muốn.

Chế phẩm miễn dịch theo sáng chế có thể ở dạng chế phẩm dùng qua da bao gồm thuốc xức, gel, thuốc xịt, thuốc mỡ hoặc các dạng thích hợp khác. Nếu mong muốn dùng qua mũi hoặc dùng qua đường hô hấp (niêm mạc) (ví dụ, xông hít hoặc thổi sol khí), các chế phẩm có thể ở dạng và được phân tán bằng thiết bị phân tán xịt bằng cách nhấn, thiết bị phân tán bằng bơm hoặc thiết bị phân tán sol khí. Các sol khí thường được chịu áp bằng hydrocarbon. Thiết bị phân tán bằng bơm tốt hơn là có thể phân tán một liều đã định hoặc liều có cỡ hạt cụ thể. Nếu ở dạng dung dịch,

hỗn dịch và gel, theo một vài phương án, chế phẩm miễn dịch chứa một lượng lớn nước (tốt hơn là nước tinh khiết) ngoài (các) thành phần hoạt tính.

Theo phương án thứ bốn mươi bốn của sáng chế, vaccin kết hợp này có thể ổn định ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C trong 12 đến 36 tháng; ở nhiệt độ 25°C trong 2 đến 6 tháng; ở nhiệt độ 37°C trong 1 đến 4 tuần.

Theo phương án thứ bốn mươi lăm theo sáng chế, chế phẩm miễn dịch có thể được bào chế để sử dụng trong phương pháp làm giảm sự khởi phát hoặc ngăn ngừa tình trạng bệnh lý bao gồm nhiễm bạch hầu, uốn ván, ho gà, virus viêm gan B, *Haemophilus influenzae* typ b, virus bại liệt bao gồm cho đối tượng người sử dụng một lượng hữu hiệu để gây miễn dịch chế phẩm miễn dịch bằng cách sử dụng ngoài đường tiêu hóa hoặc dưới da hoặc qua da, trong cơ hoặc trong màng bụng hoặc trong tĩnh mạch hoặc tiêm hoặc giải phóng kéo dài từ miếng cấy hoặc sử dụng bằng cách nhỏ mắt hoặc sử dụng ở mũi hoặc trực tràng hoặc trong khoang miệng hoặc trong âm đạo, qua đường uống hoặc trong dạ dày hoặc qua niêm mạc hoặc qua lưỡi, phế nang hoặc lợi hoặc khướu giác hoặc sử dụng ở niêm mạc đường hô hấp hoặc đường gây miễn dịch khác bất kỳ.

Theo phương án thứ bốn mươi sáu của sáng chế, chế phẩm miễn dịch có thể được bào chế dưới dạng lọ liều đơn hoặc lọ đa liều (lọ 2 liều hoặc 5 liều hoặc 10 liều) hoặc kit đa liều hoặc dưới dạng bơm tiêm nạp sẵn trong đó chế phẩm miễn dịch này có thể được sử dụng trong phác đồ liều đơn, hoặc tốt hơn là trong phác đồ liều đa trong đó sau đợt tiêm chủng sơ bộ là 1 đến 3 liều riêng biệt được tiêm vào các khoảng thời gian tiếp theo sau 1-3 năm nếu cần. Phác đồ dùng liều cũng sẽ, ít nhất một phần, được quyết định theo nhu cầu về liều nhắc lại cần để tạo ra miễn dịch bảo vệ.

Tốt hơn nữa là chế phẩm miễn dịch có thể được bào chế để sử dụng cho đối tượng người hoặc trẻ 2 tuổi hoặc nhỏ hơn theo phác đồ hai liều bao gồm liều thứ nhất và liều thứ hai cách nhau 1-3 năm.

Tốt hơn nữa là chế phẩm miễn dịch có thể được sử dụng đồng thời với các dược phẩm khác hoặc vaccin khác bất kỳ.

Theo phương án thứ bốn mươi bảy của sáng chế, tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng vaccin kết hợp dạng lỏng hoàn toàn đa liều có tính sinh miễn dịch tốt hơn và khả năng gây phản ứng giảm có thể được tạo ra nếu vaccin được sản xuất bằng quy trình được mô tả dưới đây có cân nhắc i) quy trình tạo ra từng kháng nguyên ii) trình tự bổ sung các kháng nguyên iii) sử dụng các tá dược cụ thể với lượng cụ thể cho các kháng nguyên nhất định, iv) hấp phụ riêng hoặc hấp phụ kết hợp các kháng nguyên lên tá dược v) mức hấp phụ của kháng nguyên lên tá dược vi) sử dụng nồng độ nhôm tối thiểu vii) sử dụng nồng độ và loại chất bảo quản tối ưu và viii) sử dụng các thông số khác nhau bao gồm khuấy, nhiệt độ và độ pH.

Nguồn gốc sinh học của các chủng được sử dụng trong Vaccin kết hợp SIIPL:

GIẢI ĐỘC TỔ BẠCH HẦU:

Chủng *Corynebacterium diphtheriae* PW8 CN2000 được mua từ Wellcome Research Laboratory, London, United Kingdom bởi viện nghiên cứu trung ương thuộc cơ quan kiểm soát quốc gia (C.R.I.) Kasauli, Himachal Pradesh, India ở dạng đông khô vào năm 1973. Chủng này được hoàn nguyên và được đông khô tiếp theo thuộc lô giống gốc - *C. diphtheriae* CN2000 A1 tại C.R.I. Kasauli.

GIẢI ĐỘC TỔ UỐN VÁN:

Chủng *Clostridium tetani* Harvard số 49205 được mua từ The Rijks Institute Voor de Volksgezondheid (Netherlands) thuộc cơ quan kiểm soát quốc gia C.R.I. Kasauli, ở dạng đông khô.

HO GÀ:

Việc sản xuất bán thành phẩm vaccin ho gà tại SIIPL bao gồm sử dụng bốn chủng của *Bordetella pertussis* viz. các chủng 134, 509, 6229 và 25525. Các chủng chính 134 và 509 có nguồn gốc từ Rijks Institute, The Netherlands, được mua qua cơ quan kiểm soát quốc gia, viện nghiên cứu trung ương, Kasauli, Himachal Pradesh, Ấn Độ. Giống gốc của các chủng 6229 và 25525 có nguồn gốc từ Viện Lister, Anh.

VIÊM GAN B:

Rhein Biotech (Đức) đã tạo ra chủng Hansenulapolyomorpha tái tổ hợp chứa gen kháng nguyên bề mặt HBsAg. Rhein Biotech cũng tạo ra ngân hàng tế bào chính (MCB Hansenulapolyomorpha K3/8-1 chủng ADW, 12/94) và tiến hành tất cả các thử nghiệm xác định đặc tính trên ngân hàng này.

HAEMOPHILUS INFLUENZAE Typ b:

Sinh vật nguồn để tạo ra cơ chất tế bào là *Haemophilus influenzae* typ b, chủng 760705. Chủng này được phân lập ban đầu từ bé trai 2 tuổi và 2 tháng tuổi (được sinh vào ngày 14-8-74) vào tháng 11 năm 1976. Ba lần cấy chuyển chủng này diễn ra trước khi bảo quản ở nhiệt độ -70°C ở trung tâm y học (Academic Medical Centre-AMC), đại học Amsterdam. Chủng này được chuyển sang SIIPL như là một phần của sự hợp tác giữa SIIPL và viện vacxin Hà Lan (NVI, Hà Lan).

IPV:

Chủng và nguồn gốc của virus bại liệt Salk được nêu dưới đây.

Virus bại liệt typ 1:

Chủng: Mahoney

Nguồn gốc: Bilthoven Biologicals, Netherlands

Virus bại liệt typ 2:

Chủng: MEF1

Nguồn gốc: Bilthoven Biologicals, Netherlands

Virus bại liệt typ 3:

Chủng: Saukett

Nguồn gốc: Bilthoven Biologicals, Netherlands

Mặc dù trong bản mô tả này thuật ngữ “chứa”, hoặc các thuật ngữ biến thể của nó như “bao gồm” hoặc “gồm có”, cần hiểu rằng chỉ việc bao gồm một thành phần, số nguyên hoặc bước đã nêu, hoặc nhóm các thành phần, các số nguyên hoặc

các bước, nhưng không loại trừ thành phần, số nguyên hoặc bước khác bất kỳ, hoặc nhóm các thành phần, các số nguyên hoặc các bước.

Sử dụng thuật ngữ “ít nhất” hoặc “ít nhất một” chỉ việc sử dụng một hoặc nhiều thành phần hoặc lượng, vì việc sử dụng trong phương án theo sáng chế có thể là để đạt được một hoặc nhiều mục đích hoặc kết quả mong muốn. Mặc dù các phương án nhất định của sáng chế đã được mô tả, song các phương án này được trình bày chỉ nhằm ví dụ minh họa, và không được hiểu là làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Các thay đổi hoặc các cải biến đối với chế phẩm theo sáng chế, trong phạm vi sáng chế, là có thể được tiến hành bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này khi xem xét bản mô tả này. Các cải biến hoặc thay đổi như vậy là thuộc phạm vi của sáng chế.

Các giá trị bằng số được thể hiện cho các thông số khác nhau, các kích thước và lượng chỉ là các giá trị xấp xỉ và được dự tính rằng các giá trị cao hơn giá trị bằng số được gán cho thông số, kích thước và lượng nhất định thuộc phạm vi của sáng chế trừ khi được quy định ngược lại.

Mặc dù ở đây nhấn mạnh đến các dấu hiệu cụ thể của phương án được ưu tiên, song cần hiểu rằng nhiều dấu hiệu khác có thể được bổ sung và nhiều thay đổi có thể được tiến hành ở phương án được ưu tiên mà không nằm ngoài các nguyên tắc của bản mô tả. Các thay đổi này và các thay đổi khác trong phương án được ưu tiên của sáng chế là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này dựa vào phần mô tả ở đây, do đó cần phải hiểu rõ ràng rằng đối tượng mô tả trên đây chỉ được hiểu là nhằm minh họa sáng chế và không làm giới hạn sáng chế.

Ưu điểm

Sáng chế mô tả trên đây có một vài ưu điểm và cải tiến kỹ thuật bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tạo ra chế phẩm vaccin kết hợp chứa D, T, wP, HBsAg, thể tiếp hợp Hib PRP-TT và IPV và phương pháp sản xuất chế phẩm này. Nếu so với chế phẩm vaccin kết hợp khác, sáng chế đem lại các ưu điểm sau:

1. Vaccin kết hợp lỏng hoàn toàn
2. Liều kháng nguyên IPV giảm so với liều chuẩn có hiệu quả tương đương so với liều chuẩn (40-8-32 DU)
3. Tính sinh miễn dịch cải thiện của kháng nguyên D, T, wP, HepB, Hib, IPV
4. Độ ổn định được cải thiện ở nhiệt độ 2-8°C và nhiệt độ phòng được thử nghiệm trong khoảng thời gian là 12 tháng
5. Giải độc tố bạch hầu (D) & giải độc tố uốn ván (T) có độ tinh khiết cao được tạo ra bằng cách sử dụng môi trường bán tổng hợp không chứa kháng nguyên gây bệnh não xốp truyền nhiễm (TSE) hoặc bệnh não xốp ở bò (BSE).
6. Kháng nguyên *B. pertussis* (wP) nguyên bào bao gồm các chủng *Bordetella pertussis* 134, 509, 25525 và 6229 với tỷ lệ 1:1:0,25:0,25 nhờ đó cải thiện hiệu quả và tính sinh miễn dịch chống lại *B. pertussis*.
7. Phương pháp bất hoạt thành phần *B. pertussis* (wP) nguyên bào được cải thiện nhờ kết hợp bất hoạt bằng nhiệt và formaldehyt. Quy trình này không sử dụng thiomersal và kháng nguyên ho gà nguyên bào đã bất hoạt mà vẫn không bị vón cục và đồng nhất nhờ đó khả năng gây phản ứng giảm và thu được hiệu quả tốt hơn trong một thời gian dài.
8. PRP tự do thấp (dưới 7%) trong toàn bộ bán thành phẩm tiếp hợp TT-PRP *Haemophilus influenzae* Typ b
9. Tỷ lệ phần trăm hấp phụ kháng nguyên Hib lên tá được bất kỳ là nhỏ hơn 20%.
10. Profin hấp phụ của kháng nguyên giải độc tố bạch hầu (D), kháng nguyên giải độc tố uốn ván (T) và kháng nguyên bề mặt viêm gan B (HepB) hấp phụ riêng rẽ lên tá được nhôm phosphat được cải thiện nhờ đó cải thiện hiệu quả và tính sinh miễn dịch.
11. Tổng lượng nhôm tối thiểu (Al^{3+}) nhờ đó đảm bảo khả năng gây phản ứng giảm.
12. Nồng độ của 2-phenoxyetanol (2-PE) và ít nhất một este paraben (metylparaben hoặc propylparaben) làm chất bảo quản được tối ưu nhờ đó duy trì khả năng kháng khuẩn của vaccin kết hợp đa liều dạng lỏng hoàn toàn một cách hiệu quả.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ dưới đây được bao gồm để chứng minh cho các phương án được ưu tiên của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hiểu rằng các chế phẩm và kỹ thuật được mô tả trong các ví dụ mà theo các kỹ thuật tiêu biểu được phát hiện bởi tác giả sáng chế để thực hiện chức năng tốt trong việc thực hành sáng chế, và do đó có thể được coi là tạo nên các cách thức được ưu tiên để thực hiện sáng chế. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này dựa vào sáng chế cần hiểu rằng có thể tiến hành các thay đổi cho các phương án cụ thể được bộc lộ và vẫn thu được kết quả tương tự mà không nằm ngoài phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1: Các hỗn hợp khác nhau của chế phẩm vaccin theo sáng chế

Bảng - 25: Vaccin kết hợp chứa IPV (chủng Salk typ 1(Mahoney) hoặc typ 2 (MEF) hoặc typ 3 (Saukett))													
Số th ứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Chế phẩm hỗn hợp theo sáng chế [mỗi 0,5ml]											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Giải độc tố bạch hầu (D)	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	20 Lf	20 Lf	20 Lf	20 Lf
2	Giải độc tố uốn ván (T)	02 Lf	02 Lf	02 Lf	02 Lf	02 Lf	02 Lf	02 Lf	02 Lf	4 Lf	4 Lf	4 Lf	4 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12 IOU	12 IOU	12 IOU	12 IOU	12 IOU	12 IOU	12 IOU	12 IOU	14 IOU	14 IOU	14 IOU	14 IOU
4	Kháng nguyên HBs	8 µg	8 µg	8 µg	8 µg	8 µg	8 µg	8 µg	8 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	8 µg PRP	8 µg PRP	8 µg PRP	8 µg PRP	8 µg PRP	8 µg PRP	8 µg PRP	8 µg PRP	10 µg PRP	10 µg PRP	10 µg PRP	10 µg PRP
6	Virut bại liệt đã bất hoạt (IPV)												
	Typ 1 (Các đơn vị	7,5or 10 hoặc	7,5or 10 hoặc	7,5or 10 hoặc	7,5or 10 hoặc	7,5or 10 hoặc	7,5or 10 hoặc	7,5or 10 hoặc	7,5or 10 hoặc	7,5or 10 hoặc	7,5or 10 hoặc	7,5or 10 hoặc	7,5or 10 hoặc

	kháng nguyên D)	20 hoặc 40	20 hoặc 40	20 hoặc 40	20 hoặc 40	20 hoặc 40	20 hoặc 40	20 hoặc 40	20 hoặc 40	20 hoặc 40	20 hoặc 40	20 hoặc 40	20 hoặc 40
	Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1,5 hoặc 2 hoặc 4 hoặc 8	--	1,5 hoặc 2 hoặc 4 hoặc 8	--	1,5 hoặc 2 hoặc 4 hoặc 8	--	1,5 hoặc 2 hoặc 4 hoặc 8	--	1,5 hoặc 2 hoặc 4 hoặc 8	--	1,5 hoặc 2 hoặc 4 hoặc 8	--
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32	6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32	6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32	6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32	6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32	6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32	6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32	6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32	6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32	6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32	6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32	6 hoặc 10 hoặc 16 hoặc 32
7	Tổng lượng nhôm (Al ³⁺) (dưới dạng nhôm phosphat)	Khôn g quá 0,55 mg	Khôn g quá 0,55 mg	Khôn g quá 0,55 mg	Khôn g quá 0,55 mg	Khôn g quá 0,55 mg	Khôn g quá 0,55 mg	Khôn g quá 0,55 mg	Khôn g quá 0,55 mg	Khôn g quá 0,55 mg	Khôn g quá 0,55 mg	Khôn g quá 0,55 mg	Khôn g quá 0,55 mg
8	2- Phenoxyeta nol	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg
9	Metylparab en	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	--	--	--	--	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg
10	Propylparab en	0,1 mg	0,1 mg	--	--	0,1 mg	0,1 mg	--	--	0,1 mg	0,1 mg	--	--

Bảng- 25.... Tiếp

S ố th ứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Chế phẩm hỗn hợp theo sáng chế [mỗi 0,5mL liều]											
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	Giải độc tổ bạch hầu (D)	20 Lf	20 Lf	20 Lf	20 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf
2	Giải độc tổ uốn ván (T)	4 Lf	4 Lf	4 Lf	4 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis	14 IOU	14 IOU	14 IOU	14 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU

	đã bắt hoạt (wP)												
4	Kháng nguyên HBs	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	10 µg PRP	10 µg PRP	10 µg PRP	10 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP
6	Virut bại liệt đã bắt hoạt (IPV)												
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	7,50 r 10 hoặ c 20 hoặ c 40	7,50 r 10 hoặ c 20 hoặ c 40	7,50 r 10 hoặ c 20 hoặ c 40	7,50 r 10 hoặ c 20 hoặ c 40	7,50 r 10 hoặ c 20 hoặ c 40	7,50 r 10 hoặ c 20 hoặ c 40	7,50 r 10 hoặ c 20 hoặ c 40	7,50 r 10 hoặ c 20 hoặ c 40	7,50 r 10 hoặ c 20 hoặ c 40	7,50 r 10 hoặ c 20 hoặ c 40	7,50 r 10 hoặ c 20 hoặ c 40	7,50 r 10 hoặ c 20 hoặ c 40
	Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	1,5 hoặ c 2 hoặ c 4 hoặ c 8	--	1,5 hoặ c 2 hoặ c 4 hoặ c 8	--	1,5 hoặ c 2 hoặ c 4 hoặ c 8	--	1,5 hoặ c 2 hoặ c 4 hoặ c 8	--	1,5 hoặ c 2 hoặ c 4 hoặ c 8	--	1,5 hoặ c 2 hoặ c 4 hoặ c 8	--
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	6 hoặ c 10 hoặ c 16 hoặ c 32	6 hoặ c 10 hoặ c 16 hoặ c 32	6 hoặ c 10 hoặ c 16 hoặ c 32	6 hoặ c 10 hoặ c 16 hoặ c 32	6 hoặ c 10 hoặ c 16 hoặ c 32	6 hoặ c 10 hoặ c 16 hoặ c 32	6 hoặ c 10 hoặ c 16 hoặ c 32	6 hoặ c 10 hoặ c 16 hoặ c 32	6 hoặ c 10 hoặ c 16 hoặ c 32	6 hoặ c 10 hoặ c 16 hoặ c 32	6 hoặ c 10 hoặ c 16 hoặ c 32	6 hoặ c 10 hoặ c 16 hoặ c 32
7	Tổng lượng nhôm (Al ³⁺) (dưới)	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg

	dạng nhôm phosphat)												
8	2- Phenoxye tanol	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg
9	Metylpar aben	--	--	--	--	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	--	--	--	--
10	Propylpar aben	0,1 mg	0,1 mg	--	--	0,1 mg	0,1 mg	--	--	0,1 mg	0,1 mg	--	--

Ngoài ra, điều chỉnh độ pH của chế phẩm như được mô tả trên đây đến khoảng từ 6,0 đến 7,0 bằng Natri Hydroxit/Natri Cacbonat và chỉnh thể tích bằng cách bổ sung dung dịch nước muối thông thường (0,9%). Vacxin này chứa một lượng nhỏ glutaraldehyt, formaldehyt, neomycin, streptomycin và polymixin B mà được sử dụng trong quá trình sản xuất.

Bảng 26: Vacxin kết hợp chứa IPV (Chủng Sabin: Typ 1, Typ 2 & Typ 3)

S ố th ứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Chế phẩm hỗn hợp theo sáng chế [mỗi 0,5mL liều]											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Giải độc tổ bạch hầu (D)	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	20 Lf	20 Lf	20 Lf	20 Lf
2	Giải độc tổ uốn ván (T)	02 Lf	02 Lf	02 Lf	02 Lf	02 Lf	02 Lf	02 Lf	02 Lf	4 Lf	4 Lf	4 Lf	4 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	12 IOU	12 IOU	12 IOU	12 IOU	12 IOU	12 IOU	12 IOU	12 IOU	14 IOU	14 IOU	14 IOU	14 IOU

4	Kháng nguyên HBs	8 µg	8 µg	8 µg	8 µg	8 µg	8 µg	8 µg	8 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	8 µg PRP	8 µg PRP	8 µg PRP	8 µg PRP	8 µg PRP	8 µg PRP	8 µg PRP	8 µg PRP	10 µg PRP	10 µg PRP	10 µg PRP	10 µg PRP
6	Virut bại liệt đã bất hoạt (IPV)												
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	5 hoặc c 10 hoặc c 20	5 hoặc c 10 hoặc c 20	5 hoặc c 10 hoặc c 20	5 hoặc c 10 hoặc c 20	5 hoặc c 10 hoặc c 20	5 hoặc c 10 hoặc c 20	5 hoặc c 10 hoặc c 20	5 hoặc c 10 hoặc c 20	5 hoặc c 10 hoặc c 20	5 hoặc c 10 hoặc c 20	5 hoặc c 10 hoặc c 20	5 hoặc c 10 hoặc c 20
	Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	4 hoặc c 8 hoặc c 16	--	4 hoặc c 8 hoặc c 16	--	4 hoặc c 8 hoặc c 16	--	4 hoặc c 8 hoặc c 16	--	4 hoặc c 8 hoặc c 16	--	4 hoặc c 8 hoặc c 16	--
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	10 hoặc c 16 hoặc c 32	10 hoặc c 16 hoặc c 32	10 hoặc c 16 hoặc c 32	10 hoặc c 16 hoặc c 32	10 hoặc c 16 hoặc c 32	10 hoặc c 16 hoặc c 32	10 hoặc c 16 hoặc c 32	10 hoặc c 16 hoặc c 32	10 hoặc c 16 hoặc c 32	10 hoặc c 16 hoặc c 32	10 hoặc c 16 hoặc c 32	10 hoặc c 16 hoặc c 32
7	Tổng lượng nhôm (Al ³⁺) (dưới dạng nhôm phosphat)	Không quá 0,55 mg	Không quá 0,55 mg	Không quá 0,55 mg	Không quá 0,55 mg	Không quá 0,55 mg	Không quá 0,55 mg	Không quá 0,55 mg	Không quá 0,55 mg	Không quá 0,55 mg	Không quá 0,55 mg	Không quá 0,55 mg	Không quá 0,55 mg
8	2-	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

	Phenoxyetanol	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
9	Metylparaben	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	--	--	--	--	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg
10	Propylparaben	0,1 mg	0,1 mg	--	--	0,1 mg	0,1 mg	--	--	0,1 mg	0,1 mg	--	--

Bảng-26.... Tiếp

Số thứ tự	Thành phần trong chế phẩm	Chế phẩm hỗn hợp theo sáng chế [mỗi 0,5mL liều]											
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	Giải độc tổ bạch hầu (D)	20 Lf	20 Lf	20 Lf	20 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf	25 Lf
2	Giải độc tổ uốn ván (T)	4 Lf	4 Lf	4 Lf	4 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf	10 Lf
3	Kháng nguyên B. pertussis đã bất hoạt (wP)	14 IOU	14 IOU	14 IOU	14 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU	16 IOU
4	Kháng nguyên HBs	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg	15 µg
5	Kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT	10 µg PRP	10 µg PRP	10 µg PRP	10 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP	13 µg PRP
6	Virut bại liệt đã bất hoạt												

	(IPV)												
	Typ 1 (Các đơn vị kháng nguyên D)	5 hoặ c 10 hoặ c 20	5 hoặ c 10 hoặ c 20	5 hoặ c 10 hoặ c 20	5 hoặ c 10 hoặ c 20	5 hoặ c 10 hoặ c 20	5 hoặ c 10 hoặ c 20	5 hoặ c 10 hoặ c 20	5 hoặ c 10 hoặ c 20	5 hoặ c 10 hoặ c 20	5 hoặ c 10 hoặ c 20	5 hoặ c 10 hoặ c 20	5 hoặ c 10 hoặ c 20
	Typ 2 (Các đơn vị kháng nguyên D)	4 hoặ c 8 hoặ c 16	--	4 hoặ c 8 hoặ c 16	--	4 hoặ c 8 hoặ c 16	--	4 hoặ c 8 hoặ c 16		4 hoặ c 8 hoặ c 16	--	4 hoặ c 8 hoặ c 16	--
	Typ 3 (Các đơn vị kháng nguyên D)	10 hoặ c 16 hoặ c 32	10 hoặ c 16 hoặ c 32	10 hoặ c 16 hoặ c 32	10 hoặ c 16 hoặ c 32	10 hoặ c 16 hoặ c 32	10 hoặ c 16 hoặ c 32	10 hoặ c 16 hoặ c 32	10 hoặ c 16 hoặ c 32	10 hoặ c 16 hoặ c 32	10 hoặ c 16 hoặ c 32	10 hoặ c 16 hoặ c 32	10 hoặ c 16 hoặ c 32
7	Tổng lượng nhôm (Al^{3+}) (dưới dạng nhôm phosphat)	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg	Khô ng quá 0,55 mg
8	2-Phenoxyetanol	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg	2,5 mg
9	Metylparaben	--	--	--	--	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	0,9 mg	--	--	--	--
10	Propylparaben	0,1 mg	0,1 mg	--	--	0,1 mg	0,1 mg	--	--	0,1 mg	0,1 mg	--	--

Ngoài ra, điều chỉnh độ pH của chế phẩm như được mô tả trên đây đến khoảng từ 6,0 đến 7,0 bằng Natri Hydroxit/Natri Cacbonat và tạo thể tích bằng cách bổ sung dung dịch nước muối thông thường (0,9%). Vacxin này chứa một lượng

nhỏ glutaraldehyt, formaldehyt, neomycin, streptomycin và polymixin B mà được sử dụng trong quá trình sản xuất.

Ví dụ 2: Quy trình sản xuất bán thành phẩm chứa thể tiếp hợp *Haemophilus influenzae* Typ b

Theo cái nhìn bao quát của các bước sản xuất được thể hiện trong sơ đồ trên Fig.1. Mỗi bước trong số 53 bước của quy trình được mô tả ngắn gọn dưới đây:

Bước 1: Giai đoạn I cấy chủng cấy vào bình lắc (S1):

Lọ chủng giống làm việc được sử dụng để cấy vào bình lắc dùng trong giai đoạn cấy chủng, mà chứa môi trường chủng giống đã lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 μm . Bình PETG 125 mL dùng một lần với thể tích làm việc 25 mL được sử dụng. Giai đoạn này được tiến hành trong thiết bị lắc ủ với tốc độ khuấy được kiểm soát (200 ± 50 vòng/phút) và nhiệt độ ($36 \pm 2^\circ\text{C}$). Sau khi đạt đến mức phát triển vi khuẩn thích hợp ($\text{OD}_{590} \geq 1,0$), chủng nuôi cấy được chuyển sang giai đoạn cấy chủng cấy tiếp theo (giai đoạn S2), mà được mô tả trong bước 2. Nhuộm gram được tiến hành như một biện pháp kiểm soát trong quy trình để đảm bảo độ tinh khiết của chủng nuôi cấy (*Cocobacilli* gram âm).

Bước 2: Giai đoạn II cấy chủng cấy vào bình lắc (S2):

Giai đoạn cấy chủng cấy S2 bao gồm bình nuôi cấy hình côn có dung tích 2 L (S2A và S2B) với thể tích làm việc 800 mL. Bình S2A được sử dụng để đo OD_{590} , OD_{590} vẫn trong khoảng tiêu chuẩn chấp nhận được và bình S2B được sử dụng để cấy chủng cấy ở giai đoạn S3. Cả hai bình này được cấy theo mẻ với môi trường được làm vô trùng bằng màng lọc, mà giống với môi trường trong giai đoạn cấy S1. Bình dùng trong giai đoạn S1 được sử dụng để cấy chủng cấy cả hai bình lắc ở giai đoạn II. Giai đoạn này được tiến hành trong thiết bị lắc ủ với tốc độ khuấy được kiểm soát (200 ± 50 vòng/phút) và nhiệt độ ($36 \pm 2^\circ\text{C}$). Sau khi đạt đến mức phát triển của vi khuẩn thích hợp ($\text{OD}_{590} \geq 1,0$), chủng nuôi cấy được chuyển sang giai đoạn cấy chủng tiếp theo (giai đoạn S3), mà được mô tả trong bước 3. Nhuộm gram được tiến hành như một biện pháp kiểm soát trong quy trình để đảm bảo độ tinh khiết của chủng nuôi cấy (*Cocobacilli* gram âm).

Bước 3: Giai đoạn III cấy chủng cấy vào thùng lên men:

Giai đoạn cấy chủng cấy S3 bao gồm thùng lên men có dung tích 120 L với thể tích làm việc 35 L. Thùng lên men này được lên men theo mẻ với môi trường giống với môi trường trong các giai đoạn cấy trước đó. Bình ở giai đoạn S2 được sử dụng để cấy vào bình lên men chứa chủng cấy. Quá trình phát triển được tiến hành ở nhiệt độ ($36 \pm 2^\circ\text{C}$), DO (10% điểm đặt), khuấy (tốc độ 300-600 vòng/phút), thông gió (1-5 LPM) và áp lực ngược (0,2 bar) trong bình lên men chủng nuôi cấy. Sau khi đạt đến mức phát triển của vi khuẩn thích hợp ($\text{OD}_{590} \geq 1,0$), chủng nuôi cấy được chuyển sang giai đoạn sản xuất tiếp theo (giai đoạn S4), mà được mô tả trong bước 4. Nhuộm gram được tiến hành như một biện pháp kiểm soát trong quy trình để đảm bảo độ tinh khiết của chủng nuôi cấy (*cocobaccilli* gram âm).

Bước 4: Lên men sản xuất ở quy mô 1200 L:

Bình lên men sản xuất có dung tích 1200 L có thể tích làm việc là 800 L. Bình lên men này được lên men theo mẻ với các thành phần môi trường cơ bản và được vô trùng bằng hơi nước tại chỗ. Sau đó, các chất bổ sung vào môi trường khác nhau được bổ sung sau khi cho đi qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng $0,22 \mu\text{m}$. Bình lên men này được cấy chủng nuôi cấy ở giai đoạn S3 thu được từ bước 3. Quá trình lên men được tiến hành trong điều kiện lượng oxy hòa tan được kiểm soát (20% - điểm đặt), nhiệt độ ($36 \pm 2^\circ\text{C}$), pH (7,1-7,4), tốc độ khuấy (40-400 vòng/phút), thông khí (50 – 300 LPM) và áp suất ngược (0,2 bar). Hai chất dinh dưỡng riêng biệt được bổ sung trong quá trình lên men. Sự phát triển của chủng nuôi cấy được kiểm tra bằng cách đo OD_{590} ($\text{OD}_{590} \geq 3,5$) và quá trình lên men được coi như hoàn tất sau khi đạt đến giai đoạn tĩnh. Trong suốt quá trình phát triển và giai đoạn tĩnh, sản phẩm polysaccharit được tiết ra và tích tụ trong môi trường nuôi cấy. Nhuộm gram được tiến hành như một biện pháp kiểm soát trong quy trình để đảm bảo độ tinh khiết của chủng nuôi cấy (*cocobacilli* gram âm).

Bước 5: Xử lý bằng formalin:

Việc làm giảm gánh nặng sinh học đạt được trong bước này bằng cách sử dụng hóa chất (formalin). Formalin 0,1% được bổ sung và môi trường đã lên men được ủ trong khoảng thời gian không ít hơn 2 giờ ở nhiệt độ 37°C . Sau khi xử lý bằng formalin, làm lạnh nhanh bình đến nhiệt độ $<15^\circ\text{C}$. Việc bổ sung formalin được cho là nhằm làm giảm gánh nặng sinh học. Điều này được kiểm chứng bởi các đĩa nuôi cấy

sau giai đoạn ủ. Môi trường đã làm giảm gánh nặng sinh học sẵn sàng để thu hoạch như được mô tả trong bước 6.

Bước 6: Thu hoạch bằng cách ly tâm liên tục:

Ly tâm liên tục được sử dụng như là bước thu hoạch sơ bộ. Bước này được tiến hành để tách polysacarit chứa môi trường lỏng thô khỏi sinh khối đã bất hoạt. Ly tâm liên tục được sử dụng với mục đích là loại bỏ >90% sinh khối, như được đo bằng mức giảm OD₅₉₀. Ly tâm được tiến hành ở tốc độ xấp xỉ 15000 g và ở tốc độ dòng nằm trong khoảng từ 200 đến 500 L/giờ. Dịch nổi ly tâm còn được xử lý như được mô tả trong bước 7.

Bước 7: Lọc bằng màng lọc sâu 50LP:

Dịch nổi đã ly tâm được cho đi qua màng lọc sâu 50LP để loại bỏ nguyên liệu thô như mảnh tế bào. Bước này cho phép sản phẩm đi qua dịch lọc, và tiếp theo là lọc sâu bổ sung, như được mô tả trong bước 8.

Bước 8: Lọc bằng màng lọc sâu 90LP:

Dịch lọc thu được từ bước lọc sâu 50LP còn được cho đi qua màng lọc sâu 90LP (kích thước lỗ màng theo danh nghĩa là 0,22 μm) để loại bỏ tiếp nguyên liệu không hòa tan bất kỳ mà có thể không bị giữ lại bởi màng lọc sâu trước đó. Bước này đảm bảo rằng dịch lọc về cơ bản không chứa mảnh vỡ tế bào, và có thể đi qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,22 μm một cách nhanh chóng. Bước lọc tiếp theo được mô tả trong bước 9.

Bước 9 và 10: Lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 μm :

Dịch lọc thu được từ bước lọc sâu 90LP được cho đi tiếp qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 μm , và dịch lọc được thu gom vào thùng giữ.

Bước 11 và 12: Cô và lọc thẩm tách 100kD:

Bước này được tiến hành để loại bỏ các thành phần trong môi trường và các tạp chất có khối lượng phân tử nhỏ. Ngoài ra, bước cô được tiến hành nhằm làm giảm thể tích làm việc. Ngưỡng khối lượng phân tử 100 kD được chọn làm khối lượng phân tử của polysacarit Hib (PRP) là ≥ 500 kD. Môi trường lỏng được cô đến xấp xỉ 10 lần và sau đó lọc thẩm tách không nhỏ hơn 5 thể tích sử dụng dung dịch đệm PBS 0,01 M (pH 7,2). Sản phẩm thu được trong dịch giữ lại được gọi là “PRP thô” và còn được xử lý như được mô tả trong bước 13. Môi trường lỏng cô đặc được chuyển sang khu vực

DSP nhờ cổng vận chuyển qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 để đảm bảo rằng khu vực DSP sẽ không mang vi khuẩn.

Bước 13: Kết tủa bằng CTAB:

CTAB (Cetyl-trimetyl ammonium Bromua) là một chất tẩy cation, được sử dụng để kết tủa polysacarit. CTAB bao gồm vùng ưa nước cũng như là phần kỵ nước, và các chất kết tủa protein, axit nucleic và polysacarit. PRP thô thu được từ bước 12 được kết tủa tại nồng độ CTAB bằng 1% và ủ trong > 2 giờ. Thu hoạch kết viên CTAB được mô tả ở bước 14.

Bước 14, 15 và 16: Ly tâm kết viên CTAB, thu gom và bảo quản:

Trong SEZ-3, FF, kết viên CTAB được ly tâm bằng cách ly tâm liên tục ở tốc độ 15000 vòng/phút. Thu hoạch kết viên CTAB, cân và, chia nhỏ và bảo quản ở nhiệt độ $\leq -20^{\circ}\text{C}$ để xử lý tiếp. Đây là bước giữ lại trong quy trình thứ nhất.

Bước 17 và 18: Rã đông bột nhão CTAB và hòa tan:

Bột nhão CTAB đông lạnh được rã đông đến nhiệt độ trong phòng. Kết viên đã rã đông được hòa tan trong dung dịch NaCl 5,85%. Tiến hành hòa tan trong thùng khuấy và sản phẩm polysacarit được hòa tan trong pha nước. Thùng chứa một ít nguyên liệu không hòa tan, có nguồn gốc từ các protein kết tủa và axit nucleic. Huyền phù này được xử lý tiếp như được mô tả trong bước 19.

Bước 19: Ly tâm:

Nguyên liệu thu được từ bước 18 được ly tâm ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C , ở tốc độ nằm trong khoảng từ 5000 đến 6500 vòng/phút trong khoảng từ 20 đến 30 phút để loại bỏ nguyên liệu không hòa tan. Dịch nổi ly tâm được thu gom, và được xử lý tiếp như được mô tả trong bước 20.

Bước 20: Kết tủa bằng Etanol 72%:

Etanol 72% được sử dụng để kết tủa PRP. Etanol 96% được sử dụng để tạo ra nồng độ cuối của etanol 72% đối với dịch nổi thu được ở bước 19. Bước kết tủa này được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C qua đêm. Kết tủa thu được được thu hoạch như được mô tả trong bước 21.

Bước 21 và 22: Ly tâm và hòa tan kết viên:

Kết viên etanol 72% được thu gom bằng cách ly tâm ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C , tốc độ ly tâm nằm trong khoảng từ 5000 đến 6500 vòng/phút

trong 20-30 phút. Kết viên thu được được hòa tan trong nước dùng để tiêm vắn trong khi nhìn bằng mắt thường. Bước xử lý tiếp theo kết viên đã hòa tan được mô tả trong bước 23.

Bước 23: Kết tủa sử dụng DOC và Etanol 32%:

Bổ sung natri axetat 6% và natri Deoxycholat (DOC) 1% vào nguyên liệu thu được từ bước 22. Etanol 96% được sử dụng để tạo ra nồng độ cuối của etanol là 32%. Cả DOC và cồn 32% đều khiến cho các tạp chất protein kết tủa, trong khi đó cho phép polysacarit ở pha lỏng. Bước kết tủa này được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C qua đêm (không ít hơn 8 giờ).

Bước 24: Ly tâm:

Nguyên liệu thu được từ bước 23 được ly tâm ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C, 5000-6500 vòng/phút trong 20-30 phút để loại bỏ kết tủa. Dịch nổi ly tâm được thu gom và được xử lý tiếp như được mô tả trong bước 25.

Bước 25: Lọc sâu và lọc bằng cacbon:

Dịch nổi thu được ở bước 24 chứa PRP hòa tan và được lọc sâu, sau đó lọc bằng cacbon để loại bỏ axit nucleic và chất màu. Việc loại bỏ axit nucleic được kiểm tra bằng cách đo độ hấp phụ gián đoạn ở bước sóng 260 nm (A_{260}). Sau khi đạt tới A_{260} đích, dung dịch được lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 μm và dung dịch đã lọc này được xử lý tiếp như được mô tả trong bước 26.

Bước 26: Kết tủa bằng Etanol 64%:

Nguyên liệu đã lọc thu được ở bước 25 được kết tủa tiếp bằng etanol 96% ở nồng độ cuối cùng của etanol bằng 64%. Bước kết tủa này được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C qua đêm. Kết tủa thu được được thu hoạch bằng cách ly tâm, và xử lý tiếp như được mô tả trong bước 27.

Bước 27: Thu gom kết viên và hòa tan:

Dịch nổi được gạn và loại bỏ để thu lấy kết viên. Kết viên được hòa tan trong nước dùng để tiêm ở nhiệt độ trong phòng.

Bước 28: Cô và lọc thẩm tách với ngưỡng 300 kD:

Dung dịch kết viên đã hòa tan được cô bằng cách sử dụng màng NMWCO có ngưỡng 300 kD. Tiếp đó dịch cô được lọc thẩm tách đến nồng độ không dưới (not less

than-NLT) 8X sử dụng nước dùng để tiêm. Dịch giữ lại thu được được xử lý tiếp như được mô tả trong bước 29.

Bước 29 và 30: Lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,22 μm và bảo quản PRP đã tinh chế:

Dịch giữ lại UF 300 kD được cho đi qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 μm như bước làm sạch để làm giảm thiểu gánh nặng sinh học. PRP đã tinh chế thu được được chia nhỏ và bảo quản ở nhiệt độ $\leq -20^{\circ}\text{C}$ cho đến khi sử dụng tiếp như được mô tả trong bước 31. Mẫu PRP đã tinh chế được gửi để phân tích Q.C..

Bước 31: Rã đông và gộp lại:

Tùy theo kích thước mẻ tiếp hợp, lượng polysacarit nguyên thể thích hợp thu được từ bước 30 được rã đông. Nguyên liệu thu gom được thử nghiệm hàm lượng PRP, mà cần xử lý tiếp như được mô tả trong bước 32.

Bước 32: Cô sử dụng màng có ngưỡng 100 kD:

Polysacarit đã tinh chế thu gom được cần được cô tối thiểu (8-12 mg/mL) để xử lý tiếp. Nếu nồng độ polysacarit thu gom nhỏ hơn mức đích, dung dịch polysacarit thu gom được cô bằng cách sử dụng màng NMWCO UF 100 kD

Mẫu được lấy ra sau khi cô để đảm bảo rằng đạt được nồng độ tối thiểu ở các bước tiếp theo (bước 33).

Bước 33: Loại polyme trong điều kiện kiềm:

Polysacarit đậm đặc (tương đương với 74g/110g) thu được ở bước 32 được loại polyme trong điều kiện kiềm nhẹ sử dụng dung dịch đệm cacbonat-bicacbonat. Sau khi đạt được kích thước polysacarit đích, polysacarit đã loại polyme được hoạt hóa như được mô tả trong bước 34.

Bước 34: Hoạt hóa polysacarit:

Polysacarit đã loại polyme thu được ở bước 33 được hoạt hóa bằng Xyanogen Bromua. Bước hoạt hóa này được tiến hành trong môi trường khí nitơ. Xyanogen bromua rất độc về mặt hóa học và đòi hỏi phải được tiến hành cẩn thận khi xử lý hóa chất này.

Bước 35: Gắn yếu tố liên kết:

Dung dịch dihydrazit của axit adipic (ADH) mới điều chế được bổ sung trong 6 đến 10 phút vào hỗn hợp phản ứng thu được từ bước 34. Phản ứng được tiến hành

trong khoảng thời gian không dưới 16 giờ ở nhiệt độ 2-10°C. Vai trò của yếu tố liên kết ADH là cung cấp nhóm amin cho polysacarit cần để tiến hành phản ứng tiếp hợp.

Bước 36: Cô và lọc thẩm tách:

Hỗn hợp phản ứng thu được từ bước 35 được cô và lọc thẩm tách thể tích/thể tích bằng dung dịch nước muối đậm phosphat (PBS) sử dụng màng NMWCO UF 10 kD để loại bỏ ADH tự do. Việc loại bỏ ADH được kiểm tra trên HPLC và lọc thẩm tách được tiếp tục cho đến khi lượng ADH tự do đạt tới dưới 5%. Dịch giữ lại thu được còn được lọc thẩm tách bằng dung dịch đậm NLT 5X MES-NaCl. Dung dịch thu được được cô tiếp để thu được nồng độ là không dưới 20 mg/mL. PRP đã xử lý đậm đặc được duy trì ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C cho đến khi sử dụng tiếp như được mô tả trong bước 37.

Bước 37 và 38: Lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 μm và bảo quản PRP đã xử lý:

Dịch giữ lại thu được từ bước 36 được cho đi qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 μm , mà được coi là bước làm sạch. Bước này cũng đảm bảo rằng mức gánh nặng được kiểm soát trong suốt quy trình, mà được tiến hành ở khu vực cấp C. Polysacarit đã lọc được hoạt hóa được thu gom, lấy mẫu, chia nhỏ và bảo quản ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C vẫn cần xử lý tiếp. Mẫu được lấy ra từ nhóm polysacarit đã xử lý để phân tích, phân tích này bao gồm kích thước phân tử PRP (kD), hàm lượng PRP, và mức hoạt hóa PRP. Bước xử lý tiếp PRP đã xử lý được mô tả ở bước 40.

Bước 39: Lọc thẩm tách và cô TT 10 kD:

Phản ứng tiếp hợp cần hai thành phần đó là polysacarit đã xử lý và protein mang (TT). Protein mang được cô và lọc thẩm tách bằng dung dịch đậm MES-NaCl sử dụng màng NMWCO UF 10 kD. Protein mang đã lọc thẩm tách này sau đó được cô tiếp đến nồng độ không nhỏ hơn 20 mg/mL bằng cách sử dụng màng này.

Bước 40: Tiếp hợp:

Phản ứng tiếp hợp cần hai thành phần đó là polysacarit đã xử lý và protein mang (TT). Thành phần polysacarit đã hoạt hóa thu được từ bước 38. Protein mang được thu từ bước 39. Hai thành phần này được trộn với lượng thích hợp theo tỷ lệ PRP:TT = 1:1 (khối lượng/khối lượng) khi có mặt EDC trong điều kiện khuấy. Phản

ứng tiếp hợp được kiểm tra trên HPLC và được tiếp diễn cho đến khi đạt được mức chuyển hóa protein (dựa trên mức chuyển hóa protein tự do thành dạng tiếp hợp) $\geq 85\%$.

Bước 41: Dập tắt phản ứng:

Sau khi phản ứng tiếp hợp được tiến hành đến mức tiêu chuẩn chuyển hóa chấp nhận được (bước 40), phản ứng được kết thúc bằng cách dập tắt phản ứng. Phản ứng tiếp hợp được dập tắt bằng cách sử dụng dung dịch đệm phosphat EDTA. Phản ứng tiếp hợp sau đó được xử lý như được mô tả trong bước 42.

Bước 42: Lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 micron và 30 SP:

Thể tiếp hợp thu được từ bước 41 được lọc qua màng lọc 30 SP sau đó lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 μm . Bước này đảm bảo loại bỏ các kết tụ lớn bất kỳ. Thể tiếp hợp đã lọc được xử lý như được mô tả trong bước 43.

Bước 43: Lọc thẩm tách và siêu lọc với ngưỡng lọc 300 kD:

Hỗ hợp phản ứng tiếp hợp thu được từ bước 42 được lọc thẩm tách bằng dung dịch nước muối 0,05% sử dụng màng NMWCO UF 300 kD. Lọc thẩm tách được tiến hành để loại bỏ các tác nhân phản ứng tiếp hợp và TT không phản ứng. Dịch giữ lại thu được được xử lý tiếp như được mô tả trong bước 44.

Bước 44 và 45: Lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 μm và bảo quản thể tiếp hợp thô:

Dịch giữ lại thu được từ bước 43 được cho đi qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 μm , mà được coi là bước làm sạch. Bước này cũng đảm bảo rằng mức gánh nặng sinh học được kiểm soát trong suốt quy trình, bước này được tiến hành ở khu vực cấp C. Thể tiếp hợp thô đã lọc được thu gom, lấy mẫu và bảo quản ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C vẫn cần được xử lý tiếp. Bước xử lý tiếp thể tiếp hợp thô được mô tả trong bước 46.

Bước 46: Pha loãng thể tiếp hợp thô:

Thể tiếp hợp thô thu được từ bước 45 được pha loãng với nước để tiêm (W.F.I.) đến nồng độ đích bằng 4 ± 1 mg/mL, nếu cần và được xử lý tiếp bằng các bước kết tủa được mô tả trong bước 47.

Bước 47: Kết tủa bằng amoni sulphat:

Hỗn hợp phản ứng tiếp hợp đã pha loãng được xử lý tiếp để loại bỏ PRP tự do bằng cách sử dụng amoni sulphat (dung dịch gốc 50% khối lượng/thể tích). Bước kết tủa này được tiến hành ở nhiệt độ dưới 15°C trong điều kiện khuấy. Bước kết tủa này làm kết tủa thể tiếp hợp, và để lại PRP tự do trong dịch nổi. Sau khi bổ sung amoni sulphat huyền phù thu được được bảo quản ở nhiệt độ dưới 15°C mà không cần khuấy trong khoảng thời gian không dưới 12 giờ.

Bước 48: Thu gom kết viên và hòa tan:

Huyền phù thu được từ bước 47 được ly tâm ở tốc độ ~7000 g ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C trong 40±10 phút. Dịch nổi được loại bỏ bằng cách gạn và kết viên thu được được hòa tan trong dung dịch nước muối Tris.

Bước 49: Lọc thẩm tách với ngưỡng 300 kD:

Dung dịch thu được từ bước 48 được lọc qua màng lọc sâu 30 SP và lọc thẩm tách với dung dịch nước muối Tris 20 mM sử dụng màng NMWCO 300 kD.

Bước 50: Tinh chế bằng sắc ký thẩm thấu gel (GPC):

Dung dịch thu được từ bước 49 được tải lên cột GPC có dung tích gần 70 L chứa hạt gel polyme metacrylic được hydroxyl hóa Toyopearl HW-65F dùng cho sắc ký loại trừ kích thước. Sử dụng sắc ký GPC cho thể tiếp hợp đã xử lý (sau amoni sulphat) làm giảm lượng PRP tự do trong nguyên liệu thu được. Cột được giải hấp bằng Tris 20 mM NaCl 0,9%, và các phân đoạn được thu gom dựa trên A₂₈₀. Các phân đoạn thích hợp dựa trên mức tiêu chuẩn chấp nhận được đối với PRP tự do, tỷ lệ và khối lượng phân tử được thu gom, và hỗn hợp thu gom được xử lý tiếp, như được mô tả trong Bước 51.

Bước 51: Lọc thẩm tách với ngưỡng 300 kD:

Dịch giải hấp tiếp hợp thu gom thu được từ bước 50 được lọc thẩm tách bằng Tris 20 mM sử dụng màng NMWCO UF 300 kD. Thể tích dịch giữ lại này được chú ý để lượng PRP trong dịch này xấp xỉ bằng 1 mg/mL.

Bước 52 và 53: Lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22µm:

Thể tiếp hợp bán thành phẩm thu được từ bước 51 được lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 µm trong điều kiện môi trường loại A để đảm bảo sự vô trùng. Màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 được kiểm tra tính toàn vẹn. Mẫu thu được từ thể tiếp hợp bán thành phẩm đã lọc được gửi đến bộ phận kiểm soát chất

lượng để phân tích đầy đủ. Thẻ tiếp hợp đã lọc được dán nhãn là “Thẻ tiếp hợp bán thành phẩm Hib vô trùng” và bảo quản ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C. Thẻ tiếp hợp bán thành phẩm được bảo quản ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C trong tối đa 3 tháng và sau đó nếu không được sử dụng, nó có thể được bảo quản ở nhiệt độ -70°C trong khoảng thời gian tối đa 1 năm.

Các đặc điểm chất lượng của kháng nguyên tiếp hợp Hib PRP-TT thu được là như sau:

Lượng PRP ($\mu\text{g}/0,5\text{ml}$)	: 8,1
Tỷ lệ (PRP:TT)	: 0,5
PRP tự do (%)	: 4,8%
PMW (kD)	: 983
Khối lượng phân tử trung bình (kD):	752

Ví dụ 3: Quy trình sản xuất kháng nguyên wP bất hoạt

Phương pháp bất hoạt kháng nguyên ho gà nguyên bào (wP):

Tối ưu hóa phương pháp bất hoạt được tiến hành sau khi thực hiện các thử nghiệm khác nhau mà bao gồm bất hoạt ở nhiệt độ 56°C trong 10 phút khi có mặt formaldehyt, 56°C trong 15 phút khi có mặt formaldehyt, 56°C trong 10 phút khi có mặt hymin, 56°C trong 15 phút khi có mặt hymin và chỉ gia nhiệt ở nhiệt độ 56°C trong 30 phút. Không quan sát thấy sự khác biệt đáng kể về hiệu lực giữa các phương pháp này. Trong số các phương pháp này, phương pháp bất hoạt ở nhiệt độ 56°C trong 10 phút khi có mặt formaldehyt được chọn bởi vì lượng tế bào ho gà được sản xuất bằng phương pháp này đồng nhất hơn so với các phương pháp còn lại được mô tả trên đây.

Quy trình sản xuất kháng nguyên wP đã bất hoạt bao gồm các bước sau:

a) Làm bất hoạt chủng *Bordetella pertussis* 134 ở nhiệt độ 56°C trong 10 - 15 phút khi có mặt formaldehyt

b) Làm bất hoạt chủng *Bordetella pertussis* 509 ở nhiệt độ 56°C trong 10 - 15 phút khi có mặt formaldehyt

c) Làm bất hoạt các chủng *Bordetella pertussis* 25525 và 6229 ở nhiệt độ 56°C trong 10 - 15 phút khi có mặt formaldehyt

c) Làm bất hoạt chủng *Bordetella pertussis* 6229 ở nhiệt độ 56°C trong 10 - 15 phút khi có mặt formaldehyt

d) sau đó trộn các chủng *Bordetella pertussis* 134, 509, 25525 và 6229 đã bất hoạt theo tỷ lệ 1:1:0,25:0,25.

e) Tùy ý hấp phụ lên tá dược trên cơ sở nhôm.

Quy trình không sử dụng thiomersal và kháng nguyên ho gà nguyên bào đã bất hoạt không bị vón cục và đồng nhất nhờ đó làm giảm khả năng gây phản ứng và đem lại hiệu quả tốt hơn trong một thời gian dài.

Ví dụ 4: Quy trình sản xuất virus bại liệt đã bất hoạt (IPV)

1. Virus bại liệt có thể được nuôi cấy bằng phương pháp sau:

- a) Dòng tế bào CCL81-VERO (Thận khỉ) được sử dụng làm tế bào chủ để nuôi cấy virus bại liệt tức là các chủng sabin và salk.
- b) Sau khi gây nhiễm các tế bào chủ bằng chủng virus bại liệt mong muốn và ủ trong 72 giờ, môi trường chứa virus và mảnh vỡ tế bào được gom lại và thu gom trong một đồ chứa.
- c) Dịch lọc được lọc theo dòng tiếp tuyến với catxet 100KDa; được lọc thẩm tách bằng dung dịch đệm phosphat và được tinh chế bằng sắc ký trao đổi anion.
- d) Trước khi sử dụng cho các bệnh nhân, các virus phải được bất hoạt bằng phương pháp bất hoạt thích hợp.

2. Bất hoạt bằng formalin bao gồm các bước sau:

a) Nhóm virus đã tinh chế được trao đổi đệm từ dung dịch đệm Phosphat thành dung dịch đệm Tris trong khoảng nồng độ (30 đến 50mM) có độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 7,5,

b) Bổ sung vào hỗn hợp trên môi trường M-199 chứa glyxin (5gm/l)

c) Bổ sung 0,025% formaldehyt và sau đó được trộn,

d) Tiếp đó ủ hỗn hợp ở nhiệt độ 37°C trong khoảng thời gian từ 5 đến 13 ngày kèm khuấy liên tục khối virus này trên thiết bị khuấy từ,

e) Hỗn hợp sau khi ủ được đưa vào hệ thống TFF trung gian (100 KDa, 0,1 m²) vào ngày thứ 7 và lọc lần cuối sau khi bất hoạt

f) Sau đó bán thành phẩm đã lọc được bảo quản ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C,

g) Tiến hành thử nghiệm ELISA kháng nguyên D và xác định đơn vị kháng nguyên D

h) Bán thành phẩm thu gom đơn giá gồm IPV typ 1, typ 2 và typ 3 được trộn sau đó để tạo thành IPV ba giá hoặc hai giá (typ huyết thanh Salk hoặc Sabin)

i) Điều chỉnh độ pH của chế phẩm cuối và thu được chế phẩm cuối có độ pH nằm trong khoảng từ 6 đến 6,8.

j) Kháng nguyên IPV (các chủng Sabin hoặc Salk) sau đó được bổ sung vào chế phẩm vacxin kết hợp cuối cùng hấp phụ trên tá được (muối nhôm phosphat) có mặt trong vacxin kết hợp, trong đó tỷ lệ hấp phụ của kháng nguyên IPV đối với IPV typ 1 được nhận thấy là nằm trong khoảng từ 10 đến 30%, đối với IPV typ 2 nằm trong khoảng từ 60 đến 100% và đối với IPV typ 3 nằm trong khoảng từ 0 đến 25%.

3. Quy trình bào chế IPV (các chủng Sabin và Salk) khi hấp phụ riêng lên muối nhôm:

- a) Lấy một thể tích mong muốn của AlPO₄ đã thanh trùng để thu được nồng độ nhôm (Al³⁺) cuối cùng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,8 mg/liều trong đồ chứa có dung tích 50 ml
- b) Bổ sung bán thành phẩm IPV với đơn vị kháng nguyên D đã điều chỉnh và điều chỉnh thể tích bằng chất pha loãng (10x M-199+ 0,5% Glyxin),
- c) Điều chỉnh độ pH của chế phẩm cuối và thu được chế phẩm cuối có độ pH nằm trong khoảng từ 6 đến 6,8.

4. Nhóm hóa trị đơn đã hấp phụ lên nhôm được bào chế thành IPV hai giá hoặc ba giá (typ huyết thanh Salk hoặc Sabin)

Các kết quả:

Trong đó mức hấp phụ của IPV typ 1, 2, và 3 (Sabin và Salk) lên muối nhôm phosphat (AlPO_4) được nhận thấy ít nhất là 90%.

Các tác giả sáng chế có thể làm giảm liều 2 lần đối với các kháng nguyên virus bại liệt (trong khi đó liều chuẩn của các kháng nguyên virus bại liệt là Typ 1-40 DU, Typ 2-8DU, Typ 3-32DU).

Bảng 27: Các nghiên cứu về mức hấp phụ của IPV Sabin lên nhôm phosphat

	Mẫu	Hiệu giá (mỗi liều)	Các hạt virus (tính theo K)	% tự do trong SUP	% hấp phụ lên gel
Typ 1, AlPO_4	Đối chứng	5,84	691	NA	
	Al^{3+} 125 μg /liều	3,49	3	0,43	99,57
	Al^{3+} 250 μg /liều	3,09	1,2	0,17	99,83
	Al^{3+} 500 μg /liều	2,94	0,87	0,12	99,87
Typ 2, AlPO_4	Đối chứng	5,49	309		
	Al^{3+} 125 μg /liều	3,15	1,41	0,45	99,5
	Al^{3+} 250 μg /liều	3,09	1,23	0,39	99,6
	Al^{3+} 500 μg /liều	3,09	1,23	0,39	99,6
Typ 3, AlPO_4	Đối chứng	5,59	389	NA	
	Al^{3+} 125 μg /liều	5,34	218	56,04	43,94
	Al^{3+} 250 μg /liều	5,24	173	44,47	55,53
	Al^{3+} 500 μg /liều	5,16	144	37,01	63,9

Ví dụ 5: Quy trình sản xuất vacxin kết hợp

Ví dụ này thể hiện tóm tắt quy trình sản xuất chế phẩm vacxin kết hợp chứa D, T, wP, HBsAg, thể tiếp hợp Hib PRP-TT, IPV và chất bảo quản:

Thành phần I - Giải độc tố bạch hầu hấp phụ lên nhôm

Thành phần II - Giải độc tố uốn ván được hấp phụ lên nhôm

Thành phần III – kháng nguyên wP (như được mô tả trong Ví dụ 3)

Thành phần IV - Kháng nguyên bề mặt viêm gan B được hấp phụ lên nhôm

Thành phần V – thể tiếp hợp Hib PRP (như được mô tả trong Ví dụ 2)

Thành phần VI - Kháng nguyên IPV (như được mô tả trong Ví dụ 4)

1. Quy trình điều chế thành phần I chứa giải độc tố bạch hầu được hấp phụ lên nhôm:

a) Chuyển nhôm phosphat vào đồ chứa/lọ

b) Bổ sung giải độc tố bạch hầu

c) Điều chỉnh độ pH đến khoảng từ 4,5 đến 5,5 bằng axit axetic/natri hydroxit

d) Chờ để làm ổn định

e) Điều chỉnh độ pH đến khoảng từ 5,5 đến 6,5 bằng Natri Hydroxit/Natri

Cacbonat

f) Chờ để làm ổn định

2. Quy trình điều chế thành phần II chứa Giải độc tố uốn ván được hấp phụ lên nhôm:

a) Chuyển nhôm phosphat vào đồ chứa/lọ

b) Bổ sung giải độc tố uốn ván

c) Điều chỉnh độ pH đến khoảng từ 4,5 đến 5,5 bằng axit axetic/natri hydroxit

d) Chờ để làm ổn định

e) Điều chỉnh độ pH đến khoảng từ 5,5 đến 6,5 bằng Natri Hydroxit/Natri Cacbonat

f) Chờ để làm ổn định

3. Quy trình điều chế thành phần IV chứa kháng nguyên bề mặt viêm gan B được hấp phụ lên nhôm:

a) Chuyển nhôm phosphat vào đồ chứa/lọ

b) Bổ sung kháng nguyên bề mặt viêm gan B

c) Điều chỉnh độ pH đến khoảng từ 4,5 đến 5,5 bằng axit axetic/natri hydroxit

d) Chờ để làm ổn định

e) Điều chỉnh pH đến khoảng từ 5,5 đến 6,5 bằng Natri Hydroxit/Natri Cacbonat

f) Chờ để làm ổn định

4. Quy trình sản xuất chế phẩm vaccin kết hợp chứa D, T, wP, HBsAg, thể tiếp hợp Hib PRP-TT, IPV và chất bảo quản

1. Bổ sung dung dịch nước muối thông thường vào lọ/đồ chứa dùng để trộn;

2. Bổ sung thành phần I

3. Trộn thành phần II vào thành phần I và khuấy ở RT trong 30-45 phút.

4. Bổ sung thành phần III vào hỗn hợp trên đây, sau đó khuấy ở RT trong 30-60 phút.

5. Thành phần IV được bổ sung vào hỗn hợp thu được ở bước 4 sau đó khuấy ở RT trong 30-60 phút.

6. Thành phần V được bổ sung vào hỗn hợp thu được ở bước 5 sau đó khuấy ở nhiệt độ 6 - 16°C trong 30-60 phút.

7. Thành phần VI được bổ sung vào hỗn hợp thu được ở bước 6 sau đó khuấy ở nhiệt độ 6 - 16°C.

8. Bổ sung một trong số hỗn hợp chất bảo quản được mô tả dưới đây vào hỗn hợp thu được ở bước 7 ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 6 - 16°C.

- a) 2-Phenoxyetanol với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 1 mg mỗi 0,5ml đến 6 mg mỗi 0,5ml (thể tích/thể tích); hoặc
- b) 2-Phenoxyetanol với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 1 mg mỗi 0,5ml đến 6 mg mỗi 0,5ml (thể tích/thể tích) và methylparaben được sử dụng ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1,5 mg mỗi 0,5ml (khối lượng/thể tích); hoặc
- c) 2-Phenoxyetanol với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 1 mg mỗi 0,5ml đến 6 mg mỗi 0,5ml (thể tích/thể tích) và propylparaben được sử dụng ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,2 mg mỗi 0,5ml (khối lượng/thể tích); hoặc
- d) 2-Phenoxyetanol với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 1 mg mỗi 0,5ml đến 6 mg mỗi 0,5ml (thể tích/thể tích), methylparaben được sử dụng ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1,5 mg mỗi 0,5ml (khối lượng/thể tích) và propylparaben được sử dụng ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,2 mg mỗi 0,5ml (khối lượng/thể tích).
9. Kiểm tra độ pH, nếu cần điều chỉnh độ pH đến mức nằm trong khoảng từ 6,0 đến 7,5 bằng Natri Hydroxit/Natri Cacbonat
10. Điều chỉnh thể tích bằng dung dịch nước muối (0,9%) thu được ở bước 9, sau đó khuấy trong 3 giờ.

Ví dụ 6: Profin hấp phụ, hiệu lực và độ ổn định của các kháng nguyên

Bảng 28: Bảng này thể hiện tóm tắt về tỷ lệ phần trăm hấp phụ của từng kháng nguyên, profin hiệu quả và độ ổn định của từng kháng nguyên trong Vacxin kết hợp SIIPL ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C trong khoảng thời gian 12 tháng.				
Thử nghiệm	Các giới hạn/ Thông số kỹ thuật	Ngày thứ 0	6 tháng	12 tháng
Viêm gan B Hiệu lực In-Vivo R.P (95% CL)	(0,61-1,12)	0,83	NA	Đáp ứng
Lượng Hib PRP (µg/0,5 ml) (Tổng PRP)	Giá trị thực.	9,3µg/0,5 ml	8,46 µg/0,5ml	10,03
PRP tự do (%)		8	NA	NA

Hiệu lực thành phần bạch hầu (IU/liều)	NLT 30 IU/liều,	98,5120 IU/liều (69,9650-137,247)	NA	95,8463 IU/liều
Hiệu lực thành phần uốn ván (IU/liều)	NLT 40 IU/liều	139,030 IU/liều (88,2850-208,688)	NA	382,079 IU/liều
Hiệu lực thành phần ho gà (IU/liều)	NLT 4 IU/liều	4,6749 IU/liều (2,6492-8,2763)	4,8410 IU/liều (2,7331-8,6081)	5,131
Mức hấp phụ thành phần Viêm gan-B (%)	Giá trị thực.	89,44	82,65	75,52
Mức hấp phụ thành phần uốn ván (%)	Giá trị thực.	63,0	59,0	NA
Mức hấp phụ thành phần bạch hầu (%)	Giá trị thực.	81,0	72,0	NA
Kháng nguyên D (DU/0,5 ml) (= 75% của giá trị quy định là chấp nhận được)	Typ 1= 20 DU/0,5 ml	22,414	Đáp ứng	Đáp ứng
	Typ 2= 4 DU/0,5 ml	4,692	Đáp ứng	Đáp ứng
	Typ 3= 16 DU/0,5 ml	22,084	Đáp ứng	Đáp ứng
Tổng lượng nhôm	Không quá 0,6 mg/0,5 ml	0,2768	NA	NA

NA – không có

Bảng 29: Thể hiện tóm tắt tỷ lệ phần trăm mức hấp phụ của từng kháng nguyên, profin hiệu lực và độ ổn định của từng kháng nguyên trong Vacxin kết hợp ở nhiệt độ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ trong khoảng thời gian 12 tháng.

Thử nghiệm	Các giới hạn/các thông số kỹ thuật	0 Ngày	6 tháng	12 tháng
Hiệu lực in-vivo của thành phần viêm gan B In-Vivo R.P (95% CL)	NLT 1,0	Đáp ứng	N.A	Đáp ứng
Lượng Hib PRP ($\mu\text{g}/0,5\text{ ml}$) (Tổng PRP)	Giá trị thực.	8,6 $\mu\text{g}/0,5\text{ ml}$	8,20 $\mu\text{g}/0,5\text{ ml}$	NA

Hiệu lực thành phần bạch hầu (IU/liều)	NLT 30 IU/liều,	98,5120 IU/liều (69,9650-137,247)	N.A	96,5482 IU/liều (65,9292-137,687)
Hiệu lực của thành phần uốn ván (IU/liều)	NLT 40 IU/liều	139,030 IU/liều (88,2850-208,688)	N.A	N.A
Hiệu lực của thành phần ho gà thành phần (IU/liều)	NLT 4 IU/liều	4,6749 IU/liều (2,6492-8,2763)	4,5170 IU/liều (2,4894-8,2672)	3,4899 IU/liều (1,8699*-6,4750)
Mức hấp phụ Viêm gan-B (%)	Giá trị thực.	89,44	83,92	83,00
Mức hấp phụ: thành phần uốn ván (%)	Giá trị thực.	59,0	31,0	40,0
Adsorption: Bạch hầu Thành phần (%)	Giá trị thực.	79,0	72,0	69,0
Kháng nguyên D (DU/0,5 ml) (= 75% của giá trị quy định là chấp nhận được)	Typ 1= 20 DU/0,5 ml	22,414	Đáp ứng	Đáp ứng
	Typ 2= 4 DU/0,5 ml	4,692	Đáp ứng	Đáp ứng
	Typ 3= 16 DU/0,5 ml	22,082	Đáp ứng	Đáp ứng
Tổng lượng nhôm	Không quá 0,6 mg/0,5 ml	0,2846	NA	NA

NA – không có

Bảng 30: Hiệu quả in-vivo của Vaccin kết hợp với liều IPV giảm và chuẩn

Số thứ tự	Mô tả	Virus bại liệt Typ 1			Virus bại liệt Typ 3			Kết quả
		Hiệu quả	Giới hạn dưới	Giới hạn trên	Hiệu quả	Giới hạn dưới	Giới hạn trên	
1	Sáu giá với 40-8-32 DU IPV	253,3 %	124,9 %	705,6 %	212,2 %	95,3 %	755,5 %	Phù hợp
2	Sáu giá với 20-4-16 DU IPV	164,4 %	63,9 %	571,3 %	143,2 %	64,3 %	418,6 %	Phù hợp
3	Sáu giá với 20-4-16 DU IPV	170,0 %	76,4 %	472,5 %	132,3 %	62,6 %	340,5 %	Phù hợp
4	Poliovac với	98,5%	30,9%	279,4	122,8	57,3%	269,8%	Phù hợp

	IPV liều đầy đủ							
--	-----------------	--	--	--	--	--	--	--

Đánh giá:

- Các mẻ vaccin sáu giá được sản xuất với nồng độ IPV bằng một nửa liều đã cho thấy các kết quả thử nghiệm đầy hứa hẹn.
- Hiệu quả in-vivo IPV trong vaccin sáu giá được sản xuất với một nửa nồng độ IPV được nhận thấy là tương đương với vaccin hiện nay (Poliovac trên thị trường được sản xuất bởi SIIPL) với IPV liều đầy đủ.

Ví dụ 7: Thử nghiệm hiệu quả kháng khuẩn

Các tác giả sáng chế, trong quá trình phát triển các vaccin kết hợp đa liều chứa D, T, wP, Hib, HBsAg, và IPV, đã tiến hành các thử nghiệm về khả năng kháng khuẩn của các kháng nguyên này bằng cách đầu tiên bổ sung 2-Phenoxyetanol (2-PE), mà thường được sử dụng làm chất bảo quản trong giải pháp kỹ thuật đã biết, với nồng độ 2,5 mg/liều 0,5 ml. Tuy nhiên, 2-PE được nhận thấy là có hoạt tính kháng khuẩn yếu hơn so với Thiomersal khi chống lại nấm men và nấm mốc trong vaccin kết hợp trên cơ sở DPT.

Việc tăng lượng 2-PE (chất bảo quản) để đáp ứng các tiêu chí cần thiết có thể làm nảy sinh các vấn đề về độ an toàn ở trẻ nhỏ, là các đối tượng tiếp nhận vaccin và không những thế còn làm ảnh hưởng đến độ ổn định của sản phẩm cuối. Ngoài ra, lượng chất bảo quản chứa trong vaccin cần phải đáp ứng các yêu cầu nêu trong được điển Mỹ, được điển châu Âu, được điển WHO, hoặc dạng kết hợp của chúng về độ an toàn của các vaccin.

Về điểm này, các tác giả sáng chế đã tiến hành các thử nghiệm nhằm nỗ lực phát triển chế phẩm mới mà có thể đáp ứng được các yêu cầu về khả năng kháng khuẩn bằng cách kết hợp 2-PE với chất bảo quản khác như Paraben trong vaccin kết hợp đa liều mà đáp ứng các tiêu chí cả về độ an toàn và khả năng kháng khuẩn. Theo sáng chế, thử nghiệm về khả năng kháng khuẩn được tiến hành theo tiêu chuẩn được điển châu Âu loại B (EP-B) theo yêu cầu của WHO về các sản phẩm vaccin.

Bảng 31: Chi tiết về hỗn hợp khác và nồng độ của các chất bảo quản được thử nghiệm với vaccin kết hợp

Hỗn hợp	1	2	3	4	5	6
Metyl Paraben (MP)	--	0,18%	0,18%	0,18%	--	0,18%
Propyl Paraben (PP)	--	0,02%	0,02%	--	0,02%	0,02%
2-Phenoxyetanol (PE)	0,5%	0,5%	0,4%	0,5%	0,5%	--

Sàng lọc hiệu quả kháng khuẩn:

Các chế phẩm vaccin sáu giá kết hợp như được mô tả trong Ví dụ 1 được cấy chủng với tổng cộng 6 vi sinh vật bao gồm bốn loại vi khuẩn khác nhau – *Staphylococcus aureus* (ATCC NO.- 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC NO.- 9027), *Escherichia coli* (ATCC NO.- 8739) và *Staphylococcus arlettae* (chủng phân lập từ môi trường EMI); một loại nấm men - *Candida albicans* (ATCC NO.- 10231), và một loại nấm – *Aspergillus brasiliensis* (ATCC NO.- 16404) với lượng nằm trong khoảng từ 10^5 đến 10^6 CFU/mL vào các chế phẩm vaccin ở thời điểm 0 giờ, tương ứng. Sau đó, các mẫu vi khuẩn, nấm, nấm men được thu gom ở các thời điểm 0 giờ, 24 giờ, ngày thứ 7, ngày thứ 14 và ngày thứ 28, được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy rắn, và số khuẩn lạc được đếm giữa ngày thứ 3 và ngày thứ 5 và mức giảm logarit của các khuẩn lạc được tính toán. Các kết quả được thể hiện trong bảng 32 dưới đây.

Bảng 32: Các kết quả thử nghiệm hiệu quả kháng khuẩn

Số thứ tự	Chủng nuôi cấy	CFU được thu hồi/mL của đối chứng dương (0 giờ)	Không CFU được thu hồi/mL				Thu hồi
			24 giờ	Ngày thứ 7	Ngày thứ 14	Ngày thứ 28	
Chế phẩm 1 0,5% 2PE	S.aureus	2×10^5 /mL	87000	900	0	-	Phù hợp
	P.aeruginosa	$1,8 \times 10^5$ /mL	28000	100	0	-	
	E.coli	10×10^5 /mL	9000	0	-	-	
	S.arlettae (EMI)	$2,8 \times 10^5$ /mL	114000	1600	100	0	
	C.albicans	$1,9 \times 10^5$ /mL	NA	400	0	-	
	A.brasiliensis	$2,4 \times 10^5$ /mL	NA	1600	100	0	
Chế phẩm 2 0,5% 2PE+0,18%MP+0,02%PP	S.aureus	2×10^5 /mL	0	-	-	-	Phù hợp
	P.aeruginosa	$1,8 \times 10^5$ /mL	0	-	-	-	
	E.coli	10×10^5 /mL	0	-	-	-	
	S.arlettae (EMI)	$2,8 \times 10^5$ /mL	0	0	-	-	
	C.albicans	$1,9 \times 10^5$ /mL	NA	0	-	-	
	A.brasiliensis	$2,4 \times 10^5$ /mL	NA	0	-	-	
Chế phẩm 3 0,4% 2PE+0,18%MP+0,02%PP	S.aureus	2×10^5 /mL	10	0	-	-	
	P.aeruginosa	$1,8 \times 10^5$ /mL	0	-	-	-	
	E.coli	10×10^5 /mL	0	-	-	-	

	S.arlettae (EMI)	2,8 X 10 ⁵ /mL	10	0	-	-	Phù hợp
	C.albicans	1,9 X 10 ⁵ /mL	NA	0	-	-	
	A.brasiliensis	2,4 X 10 ⁵ /mL	NA	0	-	-	
Chế phẩm 4 0,5% 2PE+0,18%MP	S.aureus	2 X 10 ⁵ /mL	10	0	-	-	Phù hợp
	P.aeruginosa	1,8 X 10 ⁵ /mL	170	10	0	-	
	E.coli	10 X 10 ⁵ /mL	0	-	-	-	
	S.arlettae (EMI)	2,8 X 10 ⁵ /mL	20	0	-	-	
	C.albicans	1,9 X 10 ⁵ /mL	NA	0	-	-	
	A.brasiliensis	2,4 X 10 ⁵ /mL	NA	0	-	-	
Chế phẩm 5 0,5% 2PE+0,02%PP	S.aureus	2 X 10 ⁵ /mL	20	0	-	-	Phù hợp
	P.aeruginosa	1,8 X 10 ⁵ /mL	0	-	-	-	
	E.coli	10 X 10 ⁵ /mL	10	0	-	-	
	S.arlettae (EMI)	2,8 X 10 ⁵ /mL	100	0	-	-	
	C.albicans	1,9 X 10 ⁵ /mL	NA	0	-	-	
	A.brasiliensis	2,4 X 10 ⁵ /mL	NA	10	0	-	
Chế phẩm 6 0,18%MP+0,02% PP	S.aureus	2 X 10 ⁵ /mL	70000	700	0	-	Phù hợp
	P.aeruginosa	1,8 X 10 ⁵ /mL	21000	0	0	-	
	E.coli	10 X 10 ⁵ /mL	6000	0	0	-	
	S.arlettae (EMI)	2,8 X 10 ⁵ /mL	101000	900	0	-	
	C.albicans	1,9 X 10 ⁵ /mL	NA	100	0	-	
	A.brasiliensis	2,4 X 10 ⁵ /mL	NA	700	0	-	

NA – Không có; 0,5% 2PE – 2,5 mg/liều 0,5 ml; 0,4% 2PE – 2 mg/liều 0,5 ml; 0,18%MP – 0,9 mg/liều 0,5 ml; 0,02%PP – 0,1mg/liều 0,5 ml; CFU- đơn vị tạo khuẩn lạc

Đánh giá:

- Đã quan sát thấy rằng toàn bộ vaccin sáu giá được sản xuất với các hỗn hợp khác nhau được nhận thấy là phù hợp với hiệu quả của chất bảo quản theo được điển châu Âu loại B. Tuy nhiên, hiệu quả này được nhận thấy là khác nhau giữa các hỗn hợp khác nhau được sử dụng.
- Hiệu quả của chất bảo quản trong vaccin sáu giá chứa 2PE, MP và PP được nhận thấy là rất tốt so với các hỗn hợp chất bảo quản khác nghĩa là chỉ 2PE, 2PE với PP, 2PE với MP và PP với MP.
- Cũng lưu ý rằng hiệu quả chất bảo quản trong vaccin sáu giá chứa 0,5% 2PE với PP và MP được nhận thấy là tốt hơn so với hỗn hợp tương tự nhưng với 0,4% 2PE.

Ví dụ 8: Vaccin giảm liều của SIIPL so với vaccin Easy Six (Panacea)

Bảng 33: Bảng này thể hiện sự so sánh giữa tỷ lệ phần trăm hấp phụ của từng kháng nguyên, hiệu quả, lượng PRP tự do giữa vaccin kết hợp giảm liều của SIIPL và vaccin Easy Six (Panacea):

Mô tả các thử nghiệm	Vaccin sáu giá SIIPL với IPV giảm liều	Vaccin kết hợp Panacea Easy-Six TM với liều IPV đầy đủ
Hiệu quả HB in vitro (µg/ml)	46,969	23,167
Mức hấp phụ HB (%)	91,8	Hơn 90,0
Hiệu quả HB In vivo	1,18	0,71(0,42-1,13)
Tổng lượng PRP (µg/0,5 ml)	9,18	13,20
PRP tự do (%)	9,0	19,45
Formaldehyt tự do (% khối lượng/thể tích)	0,0011	0,0011
2-PE (%khối lượng/thể tích)	0,499	0,660
Mức hấp phụ bạch hầu (%)	82	38
Mức hấp phụ uốn ván (%)	63	30
Typ 1 (DU/0,5 ml)	22,414	43,504
Typ 2 (DU/0,5 ml)	4,692	8,056
Typ 3 (DU/0,5 ml)	22,084	39,84
Nhôm (mg/liều)	0,2846	0,6034
Hiệu quả in vivo IPV Typ-1	170,0%	Không được thử nghiệm
IPV Typ-3	132,3%	
Hiệu lực của kháng nguyên bạch hầu	98,5120 IU/liều (69,9650-137,247)	Hơn 40
Hiệu lực của kháng nguyên uốn ván	139,030 IU/liều (88,2850-208,688)	Hơn 50
Hiệu lực của kháng nguyên ho gà	4,6749 IU/liều (2,6492-8,2763)	3,2221(1,8032-5,7706)

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm miễn dịch đa liều dạng lỏng hoàn toàn, trong đó 0,5ml chế phẩm này chứa:

- (i) giải độc tố bạch hầu, (D) với lượng nằm trong khoảng từ 10 Lf đến 25 Lf, được hấp phụ lên tá dược muối nhôm có tỷ lệ hấp phụ ít nhất là 50%;
- (ii) giải độc tố uốn ván, (T) với lượng nằm trong khoảng từ 2 Lf đến 10 Lf, được hấp phụ lên tá dược muối nhôm có tỷ lệ hấp phụ ít nhất là 40%;
- (iii) thành phần ho gà nguyên bào đã bất hoạt (wP) chứa các chủng *Bordetella pertussis* bất hoạt 134, 509, 25525 và 6229 với tỷ lệ bằng 1:1:0,25:0,25, với lượng nằm trong khoảng từ 12 IOU đến 16 IOU;
- (iv) kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B, (HBsAg) với lượng nằm trong khoảng từ 7 µg đến 15 µg, được hấp phụ lên tá dược muối nhôm có tỷ lệ hấp phụ ít nhất là 50%;
- (v) kháng nguyên *Haemophilus influenzae* typ b, (Hib) với lượng nằm trong khoảng từ 7 µg đến 13 µg;
- (vi) kháng nguyên virus bại liệt đã bất hoạt (inactivated polio virus-IPV) chứa IPV Typ 1 với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 25 DU, IPV Typ 2 với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10 DU và IPV Typ 3 với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 20 DU;
- (vii) tổng lượng nhôm (Al^{3+}) dưới dạng tá dược nhôm phosphat với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 mg đến 0,6 mg; và
- (viii) chất bảo quản là 2-phenoxyetanol với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 6 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1,5 mg (khối lượng/thể tích) và propylparaben với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,2 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

2-phenoxyetanol với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 6 mg (thể tích/thể tích) và metylparaben với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1,5 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

2-phenoxyetanol với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 6 mg (thể tích/thể tích) và propylparaben với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,2 mg (khối lượng/thể tích).

2. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó kháng nguyên Hib là polysaccharit polyribosylribitol phosphat (PRP) Hib được tiếp hợp với protein mang bằng phương pháp hóa học tiếp hợp xyanyl hóa hoặc hóa học tiếp hợp amin hóa khử, trong đó tác nhân xyanyl hóa này được chọn từ Xyanogen Bromua, 1-xyano-4-dimetylamino-pyridinium tetrafloroborat (CDAP), 1-xyano-4-pyrrolidinopyridinium tetrafloroborat (CPPT), 1-xyanoimidazol (1-CI), 1-xyanobenzotriazol (1-CBT) hoặc 2-xyanopyridazin-3(2H)on (2-CPO); và protein mang được chọn từ nhóm bao gồm giải độc tố uốn ván, CRM₁₉₇, giải độc tố bạch hầu, phức hợp màng ngoài của *Neisseria meningitidis*, đoạn C của giải độc tố uốn ván, giải độc tố ho gà, protein D của *H. influenzae*, LT *E.coli*, ST *E. coli*, và ngoại độc tố A từ *Pseudomonas aeruginosa*, phức hợp màng ngoài c (OMPC), porin, protein gắn kết với transferrin, pneumolysin, protein A bề mặt của phế cầu khuẩn (PspA), adhesin A bề mặt của phế cầu khuẩn (PsaA), PhtD của phế cầu khuẩn, các protein bề mặt BVH-3 và BVH-11 của phế cầu khuẩn, kháng nguyên bảo vệ (PA) của *Bacillus anthracis* và yếu tố gây phù đã giải độc tố (EF) và yếu tố gây chết (LF) của *Bacillus anthracis*, albumin trứng, hemoxyanin từ con sao sao có lỗ khóa (KLH), albumin huyết thanh người, albumin huyết thanh bò (BSA), dẫn xuất protein đã tinh chế của tuberculin (PPD), các peptit tổng hợp, protein sốc nhiệt, protein ho gà, xytokin, lymphokin, hocmon, các yếu tố tăng trưởng, protein nhân tạo gồm nhiều epitop tế bào T CD4⁺ của người từ các kháng nguyên có nguồn gốc từ tác nhân gây bệnh khác nhau như N 19, protein hấp thu sắt, độc tố A hoặc B từ *C. difficile* và các protein của *S.agalactiae* có hoặc không có yếu tố liên kết.

3. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó các kháng nguyên IPV là các chủng Salk được chọn từ nhóm bao gồm Mahoney, MEF-1, Saukett, hoặc các chủng Sabin được chọn từ nhóm bao gồm Sabin typ 1, Sabin typ 2 và Sabin typ 3.
4. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó D, T và HBsAg được hấp phụ riêng lên tá dược được chọn từ nhóm bao gồm muối nhôm (Al^{3+}) như nhôm hydroxit ($Al(OH)_3$) hoặc nhôm phosphat ($AlPO_4$).
5. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó các kháng nguyên IPV được hấp phụ lên muối nhôm phosphat ($AlPO_4$) có tỷ lệ phần trăm hấp phụ của IPV Typ 1 nằm trong khoảng từ 10 đến 100%, IPV Typ 2 nằm trong khoảng từ 60 đến 100% và IPV Typ 3 nằm trong khoảng từ 10 đến 100%.
6. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó tỷ lệ phần trăm hấp phụ của kháng nguyên Hib lên tá dược bất kỳ là nhỏ hơn 20%.
7. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa dung dịch đệm pha loãng được chọn từ natri clorua hoặc dung dịch nước muối đệm phosphat.
8. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 7, trong đó chế phẩm này chứa natri clorua làm môi trường pha loãng hoặc dung dịch đệm với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,5% đến 1,5%.
9. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó 0,5 ml chế phẩm chứa một trong các hỗn hợp sau:
 - a. kháng nguyên D với lượng 10 Lf; kháng nguyên T với lượng 2 Lf; kháng nguyên wP với lượng 12 IOU; HBsAg với lượng 8 μ g; kháng nguyên Hib với lượng 8 μ g; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 20 DU, và typ 3 (chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); hoặc
 - b. kháng nguyên D với lượng 20 Lf; kháng nguyên T với lượng 4 Lf; kháng nguyên wP với lượng 14 IOU; HBsAg với lượng 15 μ g; kháng nguyên Hib với lượng

10 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (chủng Mahoney) với lượng 20 DU, và typ 3 (chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

c. kháng nguyên D với lượng 25 Lf; kháng nguyên T với lượng 10 Lf; kháng nguyên wP với lượng 16 IOU; HBsAg với lượng 15 µg; kháng nguyên Hib với lượng 13 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (chủng Mahoney) với lượng 20 DU, và typ 3 (chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích).

10. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó 0,5 ml chế phẩm chứa một trong các hỗn hợp sau:

a. kháng nguyên D với lượng 10 Lf; kháng nguyên T với lượng 2 Lf; kháng nguyên wP với lượng 12 IOU; HBsAg với lượng 8 µg; kháng nguyên Hib với lượng 8 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (chủng Mahoney) với lượng 20 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 4 DU và typ 3 (chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

b. kháng nguyên D với lượng 20 Lf; kháng nguyên T với lượng 4 Lf; kháng nguyên wP với lượng 14 IOU; HBsAg với lượng 15 µg; kháng nguyên Hib với lượng 10 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (chủng Mahoney) với lượng 20 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 4 DU và typ 3 (chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

c. kháng nguyên D với lượng 25 Lf; kháng nguyên T với lượng 10 Lf; kháng nguyên wP với lượng 16 IOU; HBsAg với lượng 15 µg; kháng nguyên Hib với lượng 13 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (chủng Mahoney) với lượng 20 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 4 DU và typ 3 (chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng

lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích).

11. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó 0,5 ml chế phẩm chứa một trong các hỗn hợp sau:

a. kháng nguyên D với lượng 10 Lf; kháng nguyên T với lượng 2 Lf; kháng nguyên wP với lượng 12 IOU; HBsAg với lượng 8 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 8 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (chủng Mahoney) với lượng 20 DU, và typ 3 (chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

b. kháng nguyên D với lượng 20 Lf; kháng nguyên T với lượng 4 Lf; kháng nguyên wP với lượng 14 IOU; HBsAg với lượng 15 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 10 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (chủng Mahoney) với lượng 20 DU, và typ 3 (chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích).

c. kháng nguyên D với lượng 25 Lf; kháng nguyên T với lượng 10 Lf; kháng nguyên wP với lượng 16 IOU; HBsAg với lượng 15 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 13 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (chủng Mahoney) với lượng 20 DU, và typ 3 (chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích).

12. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó 0,5 ml chế phẩm chứa một trong các hỗn hợp sau:

a. kháng nguyên D với lượng 10 Lf; kháng nguyên T với lượng 2 Lf; kháng nguyên wP với lượng 12 IOU; HBsAg với lượng 8 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 8 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (chủng Mahoney) với lượng 20 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 4 DU và typ 3 (chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng

nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

b. kháng nguyên D với lượng 20 Lf; kháng nguyên T với lượng 4 Lf; kháng nguyên wP với lượng 14 IOU; HBsAg với lượng 15 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 10 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (chủng Mahoney) với lượng 20 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 4 DU và typ 3 (chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

c. kháng nguyên D với lượng 25 Lf; kháng nguyên T với lượng 10 Lf; kháng nguyên wP với lượng 16 IOU; HBsAg với lượng 15 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 13 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (chủng Mahoney) với lượng 20 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 4 DU và typ 3 (chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích).

13. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó 0,5 ml chế phẩm chứa một trong số các hỗn hợp sau:

a. Kháng nguyên D với lượng 10 Lf; kháng nguyên T với lượng 2 Lf; kháng nguyên wP với lượng 12 IOU; HBsAg với lượng 8 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 8 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 20DU, và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

b. Kháng nguyên D với lượng 20 Lf; kháng nguyên T với lượng 4 Lf; kháng nguyên wP với lượng 14 IOU; HBsAg với lượng 15 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 10 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 20 DU, và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích), propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

c. Kháng nguyên D với lượng 25 Lf; kháng nguyên T với lượng 10 Lf; kháng nguyên wP với lượng 16 IOU; HBsAg với lượng 15 µg; kháng nguyên Hib với lượng 13 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 20 DU, và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích), propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích).

14. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó 0,5 ml chế phẩm chứa một trong các hỗn hợp sau:

a. Kháng nguyên D với lượng 10 Lf; kháng nguyên T với lượng 2 Lf; kháng nguyên wP với lượng 12 IOU; HBsAg với lượng 8 µg; kháng nguyên Hib với lượng 8 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 20 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 4 DU và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích), propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

b. Kháng nguyên D với lượng 20 Lf; kháng nguyên T với lượng 4 Lf; kháng nguyên wP với lượng 14 IOU; HBsAg với lượng 15 µg; kháng nguyên Hib với lượng 10 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 20 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 4 DU và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích), propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

c. Kháng nguyên D với lượng 25 Lf; kháng nguyên T với lượng 10 Lf; kháng nguyên wP với lượng 16 IOU; HBsAg với lượng 15 µg; kháng nguyên Hib với lượng 13 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 20 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 4 DU và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 16 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích), propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích).

15. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó 0,5 ml chế phẩm chứa một trong các hỗn hợp sau:

a. Kháng nguyên D với lượng 10 Lf; kháng nguyên T với lượng 2 Lf; kháng nguyên wP với lượng 12 IOU; HBsAg với lượng 8 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 8 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

b. Kháng nguyên D với lượng 20 Lf; kháng nguyên T với lượng 4 Lf; kháng nguyên wP với lượng 14 IOU; HBsAg với lượng 15 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 10 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

c. Kháng nguyên D với lượng 25 Lf; kháng nguyên T với lượng 10 Lf; kháng nguyên wP với lượng 16 IOU; HBsAg với lượng 15 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 13 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích).

16. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó 0,5 ml chế phẩm chứa một trong các hỗn hợp sau:

a. Kháng nguyên D với lượng 10 Lf; kháng nguyên T với lượng 2 Lf; kháng nguyên wP với lượng 12 IOU; HBsAg với lượng 8 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 8 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 1,5 DU và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

b. Kháng nguyên D với lượng 20 Lf; kháng nguyên T với lượng 4 Lf; kháng nguyên wP với lượng 14 IOU; HBsAg với lượng 15 µg; kháng nguyên Hib với lượng 10 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 1,5 DU và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); methylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

c. Kháng nguyên D với lượng 25 Lf; kháng nguyên T với lượng 10 Lf; kháng nguyên wP với lượng 16 IOU; HBsAg với lượng 15 µg; kháng nguyên Hib với lượng 13 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 1,5 DU và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); methylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích).

17. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó 0,5 ml chế phẩm chứa một trong các hỗn hợp sau:

a. Kháng nguyên D với lượng 10 Lf; kháng nguyên T với lượng 2 Lf; kháng nguyên wP với lượng 12 IOU; HBsAg với lượng 8 µg; kháng nguyên Hib với lượng 8 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

b. Kháng nguyên D với lượng 20 Lf; kháng nguyên T với lượng 4 Lf; kháng nguyên wP với lượng 14 IOU; HBsAg với lượng 15 µg; kháng nguyên Hib với lượng 10 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

c. Kháng nguyên D với lượng 25 Lf; kháng nguyên T với lượng 10 Lf; kháng nguyên wP với lượng 16 IOU; HBsAg với lượng 15 µg; kháng nguyên Hib với lượng 13 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU và typ 3 (Chủng

Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích).

18. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó 0,5 ml chế phẩm chứa một trong các hỗn hợp sau:

a. Kháng nguyên D với lượng 10 Lf; kháng nguyên T với lượng 2 Lf; kháng nguyên wP với lượng 12 IOU; HBsAg với lượng 8 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 8 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 1,5 DU và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

b. Kháng nguyên D với lượng 20 Lf; kháng nguyên T với lượng 4 Lf; kháng nguyên wP với lượng 14 IOU; HBsAg với lượng 15 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 10 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 1,5 DU và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

c. Kháng nguyên D với lượng 25 Lf; kháng nguyên T với lượng 10 Lf; kháng nguyên wP với lượng 16 IOU; HBsAg với lượng 15 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 13 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 40 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 8 DU và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 32 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích).

19. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó 0,5 ml chế phẩm chứa một trong các hỗn hợp sau:

a. Kháng nguyên D với lượng 10 Lf; kháng nguyên T với lượng 2 Lf; kháng nguyên wP với lượng 12 IOU; HBsAg với lượng 8 μg ; kháng nguyên Hib với lượng 8 μg ; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, và typ 3 (Chủng

Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

b. Kháng nguyên D với lượng 20 Lf; kháng nguyên T với lượng 4 Lf; kháng nguyên wP với lượng 14 IOU; HBsAg với lượng 15 μ g; kháng nguyên Hib với lượng 10 μ g; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

c. Kháng nguyên D với lượng 25 Lf; kháng nguyên T với lượng 10 Lf; kháng nguyên wP với lượng 16 IOU; HBsAg với lượng 15 μ g; kháng nguyên Hib với lượng 13 μ g; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích).

20. Chế phẩm miễn dịch theo điểm 1, trong đó 0,5 ml chế phẩm chứa một trong các hỗn hợp sau:

a. Kháng nguyên D với lượng 10 Lf; kháng nguyên T với lượng 2 Lf; kháng nguyên wP với lượng 12 IOU; HBsAg với lượng 8 μ g; kháng nguyên Hib với lượng 8 μ g; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 1,5 DU và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

b. Kháng nguyên D với lượng 20 Lf; kháng nguyên T với lượng 4 Lf; kháng nguyên wP với lượng 14 IOU; HBsAg với lượng 15 μ g; kháng nguyên Hib với lượng 10 μ g; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 1,5 DU và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể

tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích); hoặc

c. Kháng nguyên D với lượng 25 Lf; kháng nguyên T với lượng 10 Lf; kháng nguyên wP với lượng 16 IOU; HBsAg với lượng 15 µg; kháng nguyên Hib với lượng 13 µg; kháng nguyên IPV, typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng 7,5 DU, typ 2 (Chủng MEF-1) với lượng 1,5 DU và typ 3 (Chủng Saukett) với lượng 6 DU, tương ứng; tổng lượng nhôm (Al^{3+}) không quá 0,55 mg; 2-Phenoxyetanol với lượng 2,5 mg (thể tích/thể tích); metylparaben với lượng 0,9 mg (khối lượng/thể tích); propylparaben với lượng 0,1 mg (khối lượng/thể tích).

21. Quy trình sản xuất chế phẩm miễn dịch đa liều dạng lỏng hoàn toàn như được yêu cầu bảo hộ theo điểm 1, trong đó, quy trình này bao gồm các bước:

- a) Bổ sung dung dịch nước muối thông thường (NaCl) vào lọ/đồ chứa dùng để trộn;
- b) Bổ sung thành phần-i chứa giải độc tố bạch hầu vào lọ/đồ chứa dùng để trộn;
- c) Bổ sung thành phần-ii chứa giải độc tố uốn ván vào lọ/đồ chứa dùng để trộn thu được từ bước (b) có kèm khuấy ở nhiệt độ phòng;
- d) Bổ sung thành phần-iii chứa kháng nguyên ho gà nguyên bào đã bất hoạt vào lọ/đồ chứa dùng để trộn thu được từ bước (c) có kèm khuấy ở nhiệt độ phòng;
- e) Bổ sung thành phần-iv chứa kháng nguyên bề mặt viêm gan B vào lọ/đồ chứa dùng để trộn thu được từ bước (d) ở nhiệt độ phòng;
- f) Bổ sung thành phần-v chứa kháng nguyên Hib vào lọ/đồ chứa dùng để trộn thu được từ bước (e) ở nhiệt độ 6-16°C;
- g) Bổ sung thành phần-vi chứa kháng nguyên IPV trong đó IPV typ 1 (Chủng Mahoney) với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 25 DU mỗi 0,5ml; IPV typ 2 (chủng MEF-1) với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10 DU mỗi 0,5 ml và

IPV typ 3 (Chủng Saukett) với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 20 DU mỗi 0,5ml vào lọ/đồ chứa dùng để trộn thu được từ bước (f) ở nhiệt độ 6-16°C;

h) Bổ sung hỗn hợp chất bảo quản vào hỗn hợp thu được từ bước (g) ở nhiệt độ 6-16°C được chọn từ:

2-Phenoxyetanol với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 6 mg mỗi 0,5ml (thể tích/thể tích) và metylparaben với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1,5 mg mỗi 0,5ml (khối lượng/thể tích); hoặc

2-Phenoxyetanol với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 6 mg mỗi 0,5ml (thể tích/thể tích) và propylparaben với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,2 mg mỗi 0,5ml (khối lượng/thể tích); hoặc

2-Phenoxyetanol với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 6 mg mỗi 0,5ml (thể tích/thể tích), metylparaben với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1,5 mg mỗi 0,5ml (khối lượng/thể tích) và propylparaben với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,2 mg mỗi 0,5ml (khối lượng/thể tích) vào lọ/đồ chứa dùng để trộn;

i) Điều chỉnh pH của hỗn hợp lỏng đến mức nằm trong khoảng từ 6,0 đến 7,0 bằng Natri Hydroxit/Natri Cacbonat; và

j) Bổ sung dung dịch nước muối thông thường (NaCl) vào hỗn hợp lỏng đã trộn để điều chỉnh thể tích.

22. Quy trình theo điểm 21, trong đó quy trình điều chế thành phần i bao gồm các bước sau:

a) Chuyển nhôm phosphat vào đồ chứa/lọ;

b) Bổ sung giải độc tố bạch hầu vào đồ chứa/lọ;

c) Điều chỉnh độ pH của dung dịch đến mức nằm trong khoảng từ 4,5 đến 5,5 bằng axit axetic/natri hydroxit;

d) Làm ổn định dung dịch;

e) Điều chỉnh pH của dung dịch đến mức nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6,5 bằng natri hydroxit/natri cacbonat; và

f) Làm ổn định dung dịch bằng dung dịch đệm histidin.

23. Quy trình theo điểm 21, trong đó quy trình điều chế thành phần ii bao gồm các bước sau:

a) Chuyển nhôm phosphat vào đồ chứa/lọ;

b) Bổ sung giải độc tố uốn ván vào đồ chứa/lọ;

c) Điều chỉnh độ pH của dung dịch đến mức nằm trong khoảng từ 4,5 đến 5,5 bằng axit axetic/natri hydroxit;

d) Làm ổn định dung dịch;

e) Điều chỉnh pH của dung dịch đến mức nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6,5 bằng natri hydroxit/natri cacbonat; và

f) Làm ổn định dung dịch bằng dung dịch đệm histidin.

24. Quy trình theo điểm 21, trong đó quy trình điều chế thành phần iii bao gồm các bước sau:

a) Làm bất hoạt chủng *Bordetella pertussis* 134 ở nhiệt độ 56°C trong 10-15 phút khi có mặt formaldehyt;

b) Làm bất hoạt chủng *Bordetella pertussis* 509 ở nhiệt độ 56°C trong 10-15 phút khi có mặt formaldehyt;

c) Làm bất hoạt các chủng *Bordetella pertussis* 25525 và 6229 ở nhiệt độ 56°C trong 10-15 phút khi có mặt formaldehyt;

d) Làm bất hoạt chủng *Bordetella pertussis* 6229 ở nhiệt độ 56°C trong 10-15 phút khi có mặt formaldehyt;

e) Sau đó trộn các chủng *Bordetella pertussis* 134, 509, 25525 và 6229 đã bất hoạt theo tỷ lệ 1:1:0,25:0,25;

trong đó quy trình này không sử dụng thiomersal và kháng nguyên ho gà nguyên bào đã bất hoạt vẫn không bị vón cục và đồng nhất nhờ đó khả năng gây phản ứng giảm và thu được hiệu quả tốt hơn trong một thời gian dài.

25. Quy trình theo điểm 21, trong đó quy trình điều chế thành phần iv bao gồm các bước sau:

- a) Chuyển nhôm phosphat vào đồ chứa/lọ;
- b) Bổ sung kháng nguyên bề mặt viêm gan B vào đồ chứa/lọ;
- c) Điều chỉnh độ pH của dung dịch đến mức nằm trong khoảng từ 4,5 đến 5,5 bằng axit axetic/natri hydroxit;
- d) Làm ổn định dung dịch;
- e) Điều chỉnh pH của dung dịch đến mức nằm trong khoảng từ 5,8 đến 6,8 bằng natri hydroxit/natri cacbonat; và
- f) Làm ổn định dung dịch.

26. Quy trình theo điểm 21, trong đó quy trình điều chế thành phần-v bao gồm các bước sau:

- a) Lên men *Haemophilus influenzae* Typ b;
- b) Làm bất hoạt ở nhiệt độ 37°C trong 2 giờ khi có mặt 0,1% formaldehyt;
- c) Tinh chế polysacarit polyribosylribitol phosphat (PRP) Hib;
- d) Tiếp hợp sản phẩm đã tinh chế thu được ở bước c với giải độc tố uốn ván (TT) bằng phương pháp hóa học tiếp hợp xyanyl hóa sử dụng xyanogen bromua khi có mặt yếu tố liên kết dihyrazit của axit adipic (ADH);
- e) Tinh chế thể tiếp hợp thu được ở bước d; và

f) Lọc thể tiếp hợp đã tinh chế tốt hơn là qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng $0,22\text{ }\mu\text{m}$;

trong đó tỷ lệ phần trăm của PRP tự do là không quá 5% trong tổng lượng thể tiếp hợp bán thành phẩm Hib đã tinh chế.