

1. Імуногенна композиція, в якій 0,5 мл композиції містить:
 - a) кон'югатний антиген полісахариду Vi *Salmonella enterica* серовару *typhi* з правцевим анатоксином (TT); та
 - b) кон'югатний антиген полісахариду OSP *Salmonella enterica* серовару *paratyphi A* з дифтерійним анатоксином (DT).
2. Імуногенна композиція за п. 1, в якій кожний з антигенів Vi-TT та OSP-DT присутній у кількості від 1,25 до 50 мкг.
3. Імуногенна композиція за п. 1 або 2, в якій композиція містить фармацевтично прийнятний буфер, вибраний з групи, що складається з хлориду натрію, ацетату, карбонату, цитрату, лактату, глюконату, тартрату, фосфатно-сольового буфера (PBS), борату, гістидинового буфера, сукцинатного буфера, HEPES, TRIS та цитратно-фосфатного буфера.
4. Імуногенна композиція за будь-яким з пп. 1-3, в якій композиція містить фармацевтично прийнятний допоміжний компонент, вибраний з групи, що складається з цукрів, поверхнево-активних речовин, полімерів, солей, амінокислот та модифікаторів pH.
5. Імуногенна композиція за п. 4, в якій цукри вибрані з групи, що складається з сахарози, манітолу, трегалози, манози, рафінози, лактитолу, лактобіонової кислоти, глюкози, мальтулози, ізомальтулози, мальтози, лактози, сорбітолу, декстрази, фруктози, гліцеролу та їх комбінації.
6. Імуногенна композиція за будь-яким з пп. 1-5, в якій, при введенні у вигляді одноразової дози, імуногенна композиція не містить консервантів.
7. Імуногенна композиція за будь-яким з пп. 1-5, в якій, при введенні у вигляді багатодозової композиції, імуногенна композиція містить один або більше консервантів, вибраних з групи, що складається з 2-феноксіетанолу, бензетонію хлориду (Phemerol), фенолу, тіомерсалу, формальдегіду, естерів парабенів (метил-, етил-, пропіл- або бутилпарабен), бензилового спирту, m-крезолу, бензалконію хлориду, хлорбутанолу та p-хлор-m-крезолу.
8. Імуногенна композиція за будь-яким з пп. 1-7, в якій композиція додатково містить ад'ювант, вибраний з групи, що складається з гідроксиду алюмінію, фосфату алюмінію, гідроксифосфату алюмінію, сульфату алюмінію калію та їх суміші.
9. Імуногенна композиція за п. 1, в якій 0,5 мл композиції містить:
 - a) кон'югатний антиген ViPs-TT *Salmonella enterica* серовару *typhi* у кількості 1,25-50 мкг;
 - b) кон'югатний антиген OSP-DT *Salmonella enterica* серовару *paratyphi A* у кількості 1,25-50 мкг;
 - c) хлорид натрію у кількості 1-10 мг; та
 - d) воду для ін'єкцій у кількості, достатній для доведення об'єму композиції до 0,5 мл.

10. Імуногенна композиція за п. 1, в якій 0,5 мл композиції містить:

- a) кон'югатний антиген ViPs-TT *Salmonella enterica* серовару *typhi* у кількості 1,25-50 мкг;
- b) кон'югатний антиген OSP-DT *Salmonella enterica* серовару *paratyphi A* у кількості 1,25-50 мкг;
- c) хлорид натрію у кількості 1-10 мг;
- d) 2-феноксіетанол у кількості 1-10 мг; та
- e) воду для ін'єкцій у кількості, достатній для доведення об'єму композиції до 0,5 мл.

11. Імуногенна композиція за п. 1, в якій 0,5 мл композиції містить:

- a) кон'югатний антиген ViPs-TT *Salmonella enterica* серовару *typhi* у кількості 1,25-50 мкг;
- b) кон'югатний антиген OSP-DT *Salmonella enterica* серовару *paratyphi A* у кількості 1,25-50 мкг;
- c) хлорид натрію у кількості 1-10 мг;
- d) TRIS-буфер, цитратний буфер, гістидиновий буфер або сукцинатний буфер у кількості 0,1-1,6 мг;
- e) полісорбат, вибраний з полісорбату-20, полісорбату-40, полісорбату-60, полісорбату-65, полісорбату-80, полісорбату-85, нонілфеноксиполіетоксіетанолу, октилфеноксиполіетоксіетанолу, октоксинулу-40, ноноксинулу-9, триетаноламіну, поліпептидного олеату триетаноламіну, поліоксіетилену-660 гідроксистеарату, поліоксіетилену-35 рицинолеату, соєвого лецитину та полуксамеру, у кількості 25-500 мкг; та
- f) воду для ін'єкцій у кількості, достатній для доведення об'єму композиції до 0,5 мл.

12. Імуногенна композиція за п. 1, в якій 0,5 мл композиції містить:

- a) кон'югатний антиген ViPs-TT *Salmonella enterica* серовару *typhi* у кількості 1,25-50 мкг;
- b) кон'югатний антиген OSP-DT *Salmonella enterica* серовару *paratyphi A* у кількості 1,25-50 мкг;
- c) хлорид натрію у кількості 1-10 мг;
- d) TRIS-буфер, цитратний буфер, гістидиновий буфер або сукцинатний буфер у кількості 0,1-1,6 мг;
- e) полісорбат, як визначено у п. 11, у кількості 25-500 мкг;
- f) 2-феноксіетанол у кількості 1-10 мг; та
- g) воду для ін'єкцій у кількості, достатній для доведення об'єму композиції до 0,5 мл.

13. Імуногенна композиція за п. 1, в якій 0,5 мл композиції містить:

- a) кон'югатний антиген ViPs-TT *Salmonella enterica* серовару *typhi* у кількості 1,25-50 мкг;

- b) кон'югатний антиген OSP-DT *Salmonella enterica* серовару *paratyphi A* у кількості 1,25-50 мкг;
- c) хлорид натрію у кількості 1-10 мг;
- d) TRIS-буфер, цитратний буфер, гістидиновий буфер або сукцинатний буфер у кількості 0,1-1,6 мг;
- e) полісорбат, як визначено у п. 11, у кількості 25-500 мкг;
- f) сахарозу у кількості 2,5-25 мг; та
- g) воду для ін'єкцій у кількості, достатній для доведення об'єму композиції до 0,5 мл.

14. Імуногенна композиція за п. 1, в якій 0,5 мл композиції містить:

- a) кон'югатний антиген ViPs-TT *Salmonella enterica* серовару *typhi* у кількості 1,25-50 мкг;
- b) кон'югатний антиген OSP-DT *Salmonella enterica* серовару *paratyphi A* у кількості 1,25-50 мкг;
- c) хлорид натрію у кількості 1-10 мг;
- d) TRIS-буфер, цитратний буфер, гістидиновий буфер або сукцинатний буфер у кількості 0,1-1,6 мг;
- e) полісорбат, як визначено у п. 11, у кількості 25-500 мкг;
- f) сахарозу у кількості 2,5-25 мг;
- g) 2-феноксіетанол у кількості 1-10 мг; та
- h) воду для ін'єкцій у кількості, достатній для доведення об'єму композиції до 0,5 мл.

15. Спосіб одержання кон'югата полісахариду Vi *Salmonella enterica* серовару *typhi* з правцевим анатоксином (TT) для імуногенної композиції за будь-яким з пп. 1-14, який включає:

- a) культивування у режимі fed-batch з метою одержання високоврожайного збору капсульного Vi-полісахариду (ViPs) *Salmonella typhi*, при цьому використання під час культивування комбінації антипінного агента, соєвого пептону в діапазоні 40-70 г/л та дріжджового екстракту в діапазоні 40-70 г/л забезпечує підвищений вихід продукту (100-700 мг/л), а параметри ферментації включають підтримання рН у діапазоні 6,7-7,1, температури у діапазоні 34,0-38,0 °C, рівня розчиненого кисню в межах 36-39 %, інтенсивності перемішування в межах 150-500 об./хв та осмоляльності 400-600 мОсмоль/кг;
- b) очищення капсульного ViPs *Salmonella typhi* шляхом обробки аніонним детергентом, включаючи додецилсульфат натрію (SDS) у концентрації менше 2 %, та катіонним детергентом, включаючи СТАВ, етилендіамінтетраоцтову кислоту (EDTA) у концентрації 4-10 мМ, ацетат натрію у концентрації 5-10 %, осадження спиртом у концентрації 30-60 %, а також концентрування та діафільтрацію з використанням мембран з порогом відсікання 30

кДа на різних стадіях, при цьому процес забезпечує зниження рівня ендотоксинів (<100 EU ендотоксину на 1 мкг полісахариду), білкових домішок (<1 %) та нуклеїнових кислот (<2 %), вихід капсульного полісахариду в діапазоні 40-65 %, рівень О-ацетилювання (>2,0 ммоль/г полісахариду), вихід очищеного Vi-полісахариду в діапазоні 100-4000 мг/л, розподіл молекулярних розмірів (>50 % полісахариду елюється до досягнення коефіцієнта розподілу (KD) 0,25) та середню молекулярну масу очищеного Vi-полісахариду в діапазоні 40-400 кДа;

с) кон'югацію очищеного ViPs з правцевим анатоксином (ТТ) з використанням карбодіїмиду, відновного амінування або реакції ціанування; та

d) очищення кон'югата ViPs-правцевий анатоксин (ТТ) за допомогою гель-фільтраційної хроматографії або ультрафільтрації, при якій об'єм кон'югата концентрують щонайменше у 3 рази та практично повністю видаляють усі непрореаговані сполуки, некон'юговані полісахариди та некон'юговані білки, з одержанням очищеної вакцини на основі кон'югата Vi-полісахариду з розміром у межах 1000-1500 кДа, при цьому вихід кон'югата становить ≥ 50 %.

16. Спосіб за п. 15, за яким перед кон'югацією ViPs піддають деполімеризації/регулюванню розміру хімічними засобами, вибраними з групи, що складається з FeCl_3 , H_2O_2 , метаперіодату натрію та ацетату натрію, або механічними засобами, вибраними з групи, що складається з високотискового руйнування клітин, гомогенізатора та ультразвукової обробки; та за яким перед кон'югацією полісахарид та/або правцевий анатоксин (ТТ) дериватизують гетеро- або гомобіфункціональним лінкером, вибраним з групи, що складається з гідразину, карбогідразиду, гідразинхлориду, дигідразиду, ϵ -аміногексанової кислоти, хлоргексанолу диметилацеталу, D-глюкуронолактону, цистаміну, p-нітрофенілетиламіну, гександіаміну, етилендіаміну, 1,6-діамінооксигексану, β -пропінаміду, нітрофенілетиламіну, галогеноалкілгалогеніду та 6-амінокапронової кислоти, з використанням карбодіїмідної реакції, відновного амінування або реакції ціанування.

17. Спосіб за п. 16, за яким очищений ViPs ковалентно зв'язують з правцевим анатоксином (ТТ) з використанням карбодіїмідної реакції кон'югації у присутності 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіїмиду (EDAC), змішаного у співвідношенні 1:0,5-1:2 за масою ViPs:EDAC, при цьому співвідношення Vi-полісахариду і білка-носія становить від 0,5 до 1,5, де співвідношення ViPs:CP:EDAC становить 1:1:2 або 1:0,9:2, або 1:0,8:1,8, або 1:0,7:1,8, а реакцію проводять при рН у діапазоні 5-7 та температурі у діапазоні від 2 до 30 °C; та за яким перед кон'югацією правцевий анатоксин (ТТ) дериватизують лінкером дигідразиду адипінової кислоти (ADH) у присутності EDAC з тривалістю реакції 1 година, яку проводять при рН у діапазоні 5-7.

18. Спосіб одержання кон'югата полісахариду OSP *Salmonella enterica* серовару *paratyphi A* з дифтерійним анатоксином (DT) для імуногенної композиції за будь-яким з пп. 1-14, який включає:

а) очищення О-специфічного полісахариду (OSP) ліпополісахариду (LPS) *Salmonella Paratyphi A* шляхом кислотного гідролізу LPS з використанням оцтової кислоти (кінцева концентрація 0,5-5 %) при рН приблизно 2,0-3,0 з подальшою нейтралізацією до рН 7,0 водним аміаком, застосуванням дезоксихолату натрію (кінцева концентрація 0,5-5 %), а також концентруванням та діалізацією з використанням мембран з порогом відсікання 10-30 кДа на різних стадіях, при цьому процес забезпечує зниження рівня ендотоксинів (<100 EU ендотоксину на 1 мкг полісахариду), білкових домішок (<1 %) та нуклеїнових кислот (<2 %), вихід полісахариду в діапазоні 40-65 %, рівень О-ацетилювання (>2,0 ммоль/г полісахариду), розподіл молекулярних розмірів (>50 % полісахариду елюється до досягнення коефіцієнта розподілу (KD) 0,25) та середню молекулярну масу очищеного OSP у діапазоні 40-400 кДа;

б) кон'югацію очищеного OSP з дифтерійним анатоксином (DT) з використанням карбодіімідної реакції, відновного амінування або реакції ціанування; та

с) очищення кон'югата OSP-дифтерійний анатоксин (DT) за допомогою гель-фільтраційної хроматографії або ультрафільтрації, при якій об'єм кон'югата концентрують щонайменше у 3 рази та практично повністю видаляють усі непрореаговані сполуки, некон'юговані полісахариди та некон'юговані білки, з одержанням очищеної вакцини на основі кон'югата OSP-DT, при цьому вихід кон'югата становить ≥ 50 %.

19. Спосіб за п. 18, за яким перед кон'югацією OSP піддають деполімеризації/регулюванню розміру хімічними засобами, вибраними з групи, що складається з FeCl_3 , H_2O_2 , метаперіодату натрію та ацетату натрію, або механічними засобами, вибраними з групи, що складається з високотискового руйнування клітин, ультразвукової обробки та гомогенізатора; та за яким перед кон'югацією дифтерійний анатоксин (DT) дериватизують гетеро- або гомобіфункціональним лінкером, вибраним з групи, що складається з гідразину, карбогідразиду, гідразинхлориду, дигідразиду, ϵ -аміногексанової кислоти, хлоргексанолу, диметилацеталю, D-глюкуронолактону, цистаміну, p-нітрофенілетиламіну, гександіаміну, етилендіаміну, 1,6-діамінооксигексану, β -пропінаміду, нітрофенілетиламіну, галогеноалкілгалогеніду та 6-амінокапронової кислоти, з використанням карбодіімідної реакції, відновного амінування або реакції ціанування; та/або за яким перед кон'югацією OSP дериватизують гетеро- або гомобіфункціональним лінкером, вибраним з групи, що складається з гідразину, карбогідразиду, гідразинхлориду, дигідразиду, ϵ -аміногексанової

кислоти, хлоргексанолу диметилацеталу, D-глюкуронолактону, цистаміну, p-нітрофенілетиламіну, гександіаміну, етилендіаміну, 1,6-діамінооксигексану, β-пропінаміду, нітрофенілетиламіну, галогеноалкілгалогеніду та 6-амінокапронової кислоти, з використанням карбодіімідної реакції, відновного амінування або реакції ціанування.

20. Спосіб за п. 18, за яким очищений OSP ковалентно зв'язують з дифтерійним анатоксином (DT) з використанням хімії кон'югації шляхом ціанування, при цьому реагент для ціанування вибраний з групи, що складається з 1-ціано-4-піролідінопіридинію тетрафтороборату (CPPT) (CPIP), 1-ціано-імідазолу (1-CI), 1-ціанобензотриазолу (1-CBT), 1-ціано-4-(диметиламіно)-піридинію тетрафтороборату (CDAP), p-нітрофенілціанату, N-ціанотріетиламонію тетрафтороборату (CTEA) та 2-ціанопіридазин-3(2H)-ону (2-CPO).

21. Спосіб за п. 18, за яким очищений OSP ковалентно зв'язують з дифтерійним анатоксином (DT) з використанням хімії кон'югації шляхом ціанування, при цьому реагентом для ціанування є CPPT, змішаний у співвідношенні 1:0,5-1:2 за масою OSP:CPPT, а співвідношення OSP та дифтерійного анатоксину (DT) становить від 0,5 до 1,5, і реакцію проводять при pH у діапазоні 5-7 та температурі у діапазоні від 2 до 30 °C.

22. Спосіб за будь-яким з пп. 18-21, за яким перед кон'югацією дифтерійний анатоксин (DT) дериватизують лінкером дигідрозиду адипінової кислоти (ADH) у присутності карбодііміду, включаючи EDAC, змішаного у співвідношенні 1:1-1:10 за масою OSP:ADH, при цьому співвідношення OSP:EDAC становить від 0,5 до 1,5, а реакцію проводять при pH у діапазоні 5-7 протягом 1-2 годин при температурі у діапазоні від 2 до 30 °C.

23. Спосіб за п. 18, за яким очищений OSP ковалентно зв'язують з дифтерійним анатоксином (DT) з використанням карбодіімідної реакції кон'югації у присутності 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодііміду (EDAC), змішаного у співвідношенні 1:0,5-1:2 за масою OSP:EDAC, при цьому співвідношення OSP-полісахариду та дифтерійного анатоксину (DT) становить від 0,5 до 1,5, а реакцію проводять при pH у діапазоні 5-7 та температурі у діапазоні від 2 до 30 °C.

24. Спосіб за п. 23, за яким перед кон'югацією OSP дериватизують лінкером дигідрозиду адипінової кислоти (ADH) з використанням хімії кон'югації шляхом ціанування, при цьому реагент для ціанування вибраний з групи, що складається з CPPT (CPIP), 1-CI, 1-CBT, CDAP, p-нітрофенілціанату, CTEA та 2-CPO.

25. Спосіб за п. 24, за яким перед кон'югацією OSP дериватизують лінкером дигідрозиду адипінової кислоти (ADH) з використанням хімії кон'югації шляхом ціанування, при цьому реагентом для ціанування є CPPT (CPIP), змішаний у співвідношенні 1:1-1:10 за масою

OSP:ADH, а співвідношення OSP:CPPT становить від 0,5 до 1,5, і реакцію проводять при рН у діапазоні 7-10 протягом 1-2 годин при температурі у діапазоні від 2 до 30 °С.

26. Імуногенна композиція за будь-яким з пп. 1-14, яка є стабільною при 2-8, 25 та 40 °С протягом періоду понад шість місяців.

27. Імуногенна композиція за п. 26, в якій після 6 місяців вміст вільного полісахариду становить не більше 7,5 % для полісахариду з молекулярною масою 180-220 кДа та не більше 10,5 % для полісахаридів з молекулярною масою 388, 80 та 45 кДа.