

HUYẾT THANH

HUYẾT THANH MIỄN DỊCH DÙNG CHO NGƯỜI

Immunosera ad usum humanum

Huyết thanh miễn dịch dùng cho người là chế phẩm có chứa globulin miễn dịch có khả năng trung hòa kháng nguyên đặc hiệu.

Sản xuất

Huyết thanh miễn dịch thu được từ động vật hoặc từ người đã được gây miễn dịch. Huyết thanh miễn dịch phải được tinh chế để lượng globulin đạt theo quy định và để loại bỏ các protein không cần thiết.

Có thể cho thêm chất bảo quản vào thành phẩm.

Trong huyết thanh miễn dịch dạng đông khô, độ ẩm tồn dư không được quá 3 % (kl/kl).

Huyết thanh miễn dịch dạng lỏng phải không có màu hoặc màu vàng nhạt, không có cặn. Huyết thanh miễn dịch dạng đông khô phải dễ hòa tan thành dung dịch không màu hoặc màu vàng nhạt, có cùng đặc tính như sản phẩm ở dạng lỏng.

Các thử nghiệm kiểm định

pH

6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Protein ngoại lai

Chỉ có protein của loài động vật hoặc người dùng để sản xuất huyết thanh miễn dịch (Phụ lục 15.10).

Protein tổng số

Không quá 170 g/l (Phụ lục 15.34).

Albumin

Chỉ được ở dạng vết khi phát hiện bằng phương pháp điện di miễn dịch.

Chất bảo quản

Thimerosal: Không quá 0,02 % (Phụ lục 15.29).

Phenol: Không quá 0,25 % (Phụ lục 15.28).

Vô trùng

Có thể thực hiện bằng kỹ thuật nuôi cấy trực tiếp hoặc kỹ thuật nuôi cấy màng lọc (Phụ lục 15.7).

Tiêu chuẩn: Không có vi khuẩn hoặc vi nấm mọc trên môi trường thích hợp sau thời gian 14 ngày ở nhiệt độ 30 °C đến 35 °C đối với kiểm tra vi khuẩn và 20 °C đến 25 °C đối với kiểm tra vi nấm.

Công hiệu

Kiểm tra công hiệu được thực hiện theo hướng dẫn đối với mỗi loại huyết thanh miễn dịch và được biểu thị bằng số đơn vị quốc tế (IU) trong 1 ml.

Đơn vị quốc tế: Được xác định theo quy định của Tổ chức Y tế Thế giới.

Tiêu chuẩn: Mỗi loại huyết thanh miễn dịch có tiêu chuẩn công hiệu riêng.

An toàn chung

Dùng 5 chuột nhất trắng nặng 17 g đến 22 g mỗi con và 2 chuột lang nặng 250 g đến 350 g mỗi con.

Tiêm phúc mạc chuột lượng huyết thanh miễn dịch bằng một liều dùng cho người, nhưng không quá 1 ml cho mỗi chuột nhất trắng và không quá 5 ml cho mỗi chuột lang (Phụ lục 15.11).

Tiêu chuẩn: Sau ít nhất 7 ngày theo dõi, chuột không giảm cân và không có biểu hiện bệnh lý.

Chất gây sốt

Tiêm với liều từ 0,5 ml đến 10 ml cho 1 kg cân nặng thỏ tùy theo quy định đối với từng loại huyết thanh miễn dịch (Phụ lục 15.12).

Tiêu chuẩn: Thân nhiệt ban đầu phải nằm trong khoảng 38 °C đến 39,8 °C; hiệu số nhiệt giữa hai lần đo không quá 0,2 °C; thân nhiệt ban đầu giữa các thỏ chênh lệch không quá 1 °C; thân nhiệt cao nhất của thỏ đo được trong khoảng 3 h sau khi tiêm là giá trị cần xác định, giá trị này không quá 0,6 °C đối với mỗi thỏ và tổng giá trị của 3 thỏ không quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Bảo quản, hạn dùng

Sinh phẩm được giữ ở điều kiện lạnh, nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C. Không làm đông băng huyết thanh miễn dịch dạng lỏng.

Hạn dùng được tính từ khi bắt đầu kiểm tra công hiệu, tùy từng nhà sản xuất và được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

GLOBULIN MIỄN DỊCH NGƯỜI

Immunoglobulinum humanum normale

Globulin miễn dịch người là chế phẩm dạng lỏng hoặc đông khô có chứa các globulin miễn dịch, chủ yếu là IgG từ huyết tương người bình thường.

Globulin miễn dịch ở dạng lỏng là dung dịch trong suốt, không màu hoặc có màu nâu-vàng nhạt.

Globulin miễn dịch đông khô là bột màu trắng hoặc vàng nhạt, có dạng khối xốp, mịn.

Globulin miễn dịch người không đặc hiệu được chỉ định dùng để điều trị phòng ngừa nhiễm viêm gan A, viêm gan B, sởi, rubella... hoặc trong các trường hợp bị thiếu hụt globulin gamma, các trường hợp đang điều trị ức chế miễn dịch, bị nhiễm trùng nhưng kháng thuốc kháng sinh.

Sản xuất

Globulin miễn dịch được điều chế từ huyết tương của tối thiểu 1000 người. Huyết tương nguồn có thể được chiết

tách trực tiếp từ máu người hoặc từ huyết tương đông băng có chứa không ít hơn 0,1 đơn vị kháng độc tố bạch hầu hoặc kháng độc tố uốn ván và không ít hơn 0,25 đơn vị kháng thể kháng sởi.

Phần có chứa globulin miễn dịch lớp G được phân tách bằng phương pháp sắc ký cột sao cho không làm hỏng các cấu trúc kháng thể, đảm bảo ngăn ngừa sự lan truyền của các virus viêm gan và các vi sinh vật khác, nồng độ của globulin miễn dịch phải đạt 50 g/l với nhiều loại kháng thể khác nhau và ít nhất 2 trong số đó (một loại kháng vi khuẩn và một loại kháng virus) phải có nồng độ cao hơn tối thiểu gấp 3 lần so với nồng độ ban đầu. Các chất bảo quản kháng vi sinh vật hoặc chất ổn định có thể được sử dụng nhưng không được làm ảnh hưởng đến hiệu giá của các kháng thể.

Nhận dạng

Nhận dạng Globulin miễn dịch có nguồn gốc từ huyết tương người:

Globulin miễn dịch người được nhận dạng qua thử nghiệm kết tủa bằng cách sử dụng các kháng huyết thanh đặc hiệu đối với protein huyết tương người.

Tiêu chuẩn: Mẫu thử nghiệm phải có phản ứng dương tính với kháng huyết thanh đặc hiệu đối với người và phải có phản ứng âm tính với kháng huyết thanh đặc hiệu của loài khác.

Nhận dạng Globulin miễn dịch lớp G (IgG):

Sử dụng kháng huyết thanh đặc hiệu kháng huyết thanh người để so sánh giữa huyết thanh người bình thường và mẫu thử nghiệm bằng kỹ thuật điện di miễn dịch.

Tiêu chuẩn: Thành phần chính của mẫu thử nghiệm phải tương ứng với thành phần IgG của huyết thanh người bình thường.

Hiệu giá

Hiệu giá của kháng độc tố bạch hầu hoặc kháng độc tố uốn ván

Hiệu giá của kháng độc tố bạch hầu: Phụ lục 15.15.

Hiệu giá của kháng độc tố uốn ván: Phụ lục 15.16.

Tiêu chuẩn: Hàm lượng kháng độc tố bạch hầu hoặc kháng độc tố uốn ván không nhỏ hơn 2 IU/ml mẫu thử nghiệm.

Hiệu giá của kháng thể kháng sởi

Hiệu giá của kháng thể kháng sởi của globulin miễn dịch người không đặc hiệu được xác định bằng kỹ thuật trung hòa trên tế bào Vero và tính bằng số đơn vị quốc tế trong 1 ml (IU/ml).

Vật liệu:

Mẫu thử nghiệm: Globulin miễn dịch người.

Mẫu chuẩn quốc tế.

Huyết thanh bào thai bê.

Tế bào Vero.

Virus sởi giảm độc lực để trung hòa.

Môi trường 199 có chứa 2 % huyết thanh bào thai bê.

Trypsin 0,25 %.

Phiên nhạ nuôi tế bào 96 giếng, đáy bằng.

Tiến hành: Tiến hành đồng thời trên 2 phiên cho 1 lần thử nghiệm.

Phiên 1:

Pha loãng mẫu chuẩn và mẫu thử nghiệm với môi trường 199 để có dung dịch chứa 5 IU/ml.

Tiếp tục pha loãng bậc 2 liên tiếp từ dung dịch pha loãng trên của mẫu thử nghiệm và mẫu chuẩn để có các dung dịch 2^{-1} , 2^{-2} , 2^{-3} , ... đến 2^{-12} .

Pha virus sởi trung hòa bằng môi trường 199 để có dung dịch chứa 100 CCID₅₀/50 µl (Cell Culture Infectious Dose - Liều gây hủy hoại 50 % tế bào).

Nhỏ 50 µl từ mỗi dung dịch đã pha loãng của mẫu thử nghiệm và mẫu chuẩn ở các độ pha từ 2^{-6} đến 2^{-12} vào 7 giếng theo sơ đồ bố trí trên phiên trước.

Nhỏ 50 µl dung dịch virus trung hòa.

Đề ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO₂ trong vòng 60 min đến 90 min.

Chuẩn bị dung dịch tế bào Vero có nồng độ 2×10^5 /ml.

Nhỏ 100 µl dung dịch tế bào vào mỗi giếng.

Đề ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO₂ trong 7 ngày đến 9 ngày.

Theo dõi sự biến đổi tế bào (CPE) của virus sởi dưới kính hiển vi.

Phiên 2:

Hay được gọi là phiên “chứng”, nhằm xác định số CCID₅₀/50 µl được dùng để trung hòa trong thử nghiệm xác định hiệu giá của kháng thể kháng sởi.

Từ dung dịch virus sởi gốc lưu giữ ở âm sâu (≤ -35 °C), pha để có 100 CCID₅₀/50 µl. Dung dịch này được ký hiệu là 10°.

Tiếp tục pha loãng bậc 10 từ dung dịch 10° để có các độ pha loãng: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} và 10^{-4} .

Nhỏ 50 µl từ mỗi độ pha loãng virus vào một dãy giếng của phiên.

Đề ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO₂ trong vòng 60 min đến 90 min.

Nhỏ 100 µl dung dịch tế bào có nồng độ 2×10^5 /ml.

Đề ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO₂ trong 7 ngày đến 9 ngày.

Theo dõi CPE dưới kính hiển vi.

Tính số CCID₅₀/50 µl để trung hòa trong thử nghiệm:

Tính theo công thức Karber:

$$\text{Lg CCID}_{50} = -\text{lg } C - [(\text{Tổng số \% hủy hoại ở các nồng độ}/100 - 0,5) \times \text{lg } d]$$

Trong đó:

CCID₅₀ là liều virus gây hủy hoại 50 % tế bào;

C là nồng độ virus cao nhất dùng trong thử nghiệm;

% hủy hoại là tỷ lệ giữa số giếng có sự hủy hoại tế bào và tổng số giếng của một độ pha;

d là hệ số (bậc) pha loãng.

Tiêu chuẩn: Số CCID₅₀/50 µl phải nằm trong khoảng dao động từ 31 đến 316.

Tính liều bảo vệ 50 % tế bào:

Tính theo công thức Karber hoặc Reed-Muench:

$$\text{Lg ED}_{50} = -\text{lg } C - [(\text{Tổng số \% bảo vệ ở các nồng độ}/100 - 0,5) \times \text{lg } d]$$

Trong đó:

ED₅₀ là liều bảo vệ 50 % tế bào;

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

C là độ pha loãng thấp nhất của mẫu thử hoặc mẫu chuẩn quốc tế dùng trong thử nghiệm bảo vệ được 100 % tế bào; % bảo vệ là tỷ lệ giữa số giếng có tế bào được bảo vệ và tổng số giếng của một độ pha; d là hệ số (bậc) pha loãng.

Tính hiệu giá:

$HG (IU/ml) = (ED_{50} \text{ của mẫu chuẩn} / ED_{50} \text{ của mẫu thử nghiệm}) \times 5 (IU)$

Tiêu chuẩn: Hiệu giá của kháng thể kháng sởi phải không được nhỏ hơn 5 IU/ml globulin miễn dịch người không đặc hiệu.

Hàm lượng globulin miễn dịch G (IgG)

Xác định hàm lượng IgG bằng kỹ thuật điện di (Phụ lục 5.6).

Tiêu chuẩn: Không nhỏ hơn 90 % hàm lượng protein tổng.

Tính tan

Globulin miễn dịch người đông khô phải tan hoàn toàn trong vòng 20 min ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C sau khi được hoàn nguyên theo hướng dẫn ghi trên nhãn của sản phẩm.

An toàn chung

Phụ lục 15.11.

Chất gây sốt

Phụ lục 15.12.

Vô trùng

Đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

Nitơ toàn phần

Phụ lục 15.18.

Thimerosal

Không lớn hơn 0,012 % (Phụ lục 15.29).

pH

6,4 đến 7,2 (Phụ lục 15.33).

Bảo quản

Tùy theo nhà sản xuất, trong các lọ thủy tinh không màu, tránh ánh sáng.

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

HUYẾT THANH KHÁNG BẠCH HẦU

Immunoserum diphthericum

Huyết thanh kháng độc tố bạch hầu là chế phẩm chứa globulin kháng độc tố, có khả năng trung hòa đặc hiệu ngoại độc tố của *Corynebacterium diphtheriae*.

Nhận dạng

Huyết thanh kháng độc tố bạch hầu trung hòa độc tố của

HUYẾT THANH KHÁNG DẠI

Corynebacterium diphtheriae làm cho độc tố này trở nên không độc, vô hại đối với động vật cảm thụ.

Các thử nghiệm kiểm định

Huyết thanh kháng bạch hầu phải đáp ứng các thử nghiệm kiểm định ghi trong chuyên luận "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người" và các yêu cầu sau đây:

Công hiệu

Công hiệu của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu được thể hiện bằng số đơn vị quốc tế trong 1 ml (IU/ml).

Tiêu chuẩn: Không nhỏ hơn 500 IU/ml.

Xác định công hiệu của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu được thực hiện bằng phương pháp trung hòa trong da thỏ hoặc bằng phương pháp trung hòa trên chuột lang có cân nặng mỗi chuột từ 250 g đến 350 g (Phụ lục 15.15).

Bảo quản

Huyết thanh kháng bạch hầu cần được bảo quản trong điều kiện lạnh, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, không để đông băng.

Nhãn

Các thông tin ghi trên nhãn phải đáp ứng những yêu cầu của quy định hiện hành.

HUYẾT THANH KHÁNG DẠI

Serum antirabicum

Huyết thanh kháng dại là chế phẩm có chứa globulin miễn dịch kháng virus dại, có khả năng trung hòa đặc hiệu virus dại.

Nhận dạng

Huyết thanh kháng dại trung hòa virus dại làm cho virus mất khả năng gây bệnh, trở nên vô hại đối với động vật cảm thụ.

Các thử nghiệm kiểm định

Huyết thanh kháng dại phải đáp ứng các thử nghiệm kiểm định ghi trong chuyên luận "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người" và các yêu cầu sau đây:

Protein ngoại lai: Không được có trong thành phẩm.

Công hiệu

Công hiệu của huyết thanh kháng dại được thể hiện bằng số đơn vị quốc tế trong 1 ml (IU/ml).

Tiêu chuẩn: Không nhỏ hơn 150 IU/ml.

Phương pháp xác định số IU/ml của huyết thanh kháng dại được thực hiện bằng phương pháp trung hòa trên chuột nhắt (Phụ lục 15.17). Phản ứng này dựa trên sự trung hòa một liều cố định hiệu giá virus dại thử thách với các độ pha loãng khác nhau của huyết thanh.

Bảo quản

Huyết thanh kháng dại cần được bảo quản trong điều kiện lạnh, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, không để đông băng.

Nhãn

Các thông tin ghi trên nhãn theo quy định hiện hành.