

HUYẾT THANH KHÁNG NỌC RẮN

Immunoserum contra venena

Huyết thanh kháng nọc rắn là chế phẩm chứa các globulin miễn dịch kháng nọc rắn có khả năng trung hòa đặc hiệu nọc rắn tương ứng.

Huyết thanh kháng nọc rắn ở dạng lỏng là dung dịch không màu, trong suốt hoặc có màu vàng nhạt, hơi nhớt. Huyết thanh kháng nọc rắn có thể ở dạng đông khô kèm theo nước hồi chính.

Huyết thanh kháng nọc rắn được chỉ định dùng để điều trị bệnh nhân bị rắn cắn.

Sản xuất

Huyết thanh kháng nọc rắn được tinh chế sản xuất từ huyết tương ngựa khỏe mạnh, tuổi từ 4 năm đến 7 năm, cân nặng từ 200 kg trở lên, ngựa đực phải thiến, ngựa cái không được sinh sản, đã được miễn dịch với kháng nguyên nọc rắn. Huyết thanh kháng nọc rắn được tinh chế, cô đặc bằng phương pháp Pope dùng pepsin, có chất bảo quản là merthiolat 1/10.000. Sau đó được lọc vô trùng qua màng lọc 0,2 μm , pha chế đến hàm lượng thích hợp và đóng ống.

Nhận dạng

Huyết thanh kháng nọc rắn được nhận dạng thông qua thử nghiệm xác định hiệu giá.

Hiệu giá

Thử nghiệm xác định hiệu giá của huyết thanh kháng nọc rắn được thực hiện trên nguyên lý trung hòa nọc rắn với huyết thanh kháng nọc rắn tương ứng. Thử nghiệm được thực hiện trên chuột nhắt trắng Swiss để xác định số LD_{50} có trong 1 ml huyết thanh.

Phương pháp tiến hành

Vật liệu:

Huyết thanh kháng nọc rắn thử nghiệm.

Nọc rắn tinh chế.

Chuột nhắt trắng Swiss, cân nặng 18 g đến 20 g.

Nước muối sinh lý.

Tiến hành:

* Xác định LD_{50} của nọc rắn:

Pha dung dịch nọc rắn gốc: Pha dung dịch nọc rắn gốc có nồng độ 1000 $\mu\text{g/ml}$ bằng cách cân 10 mg nọc rắn và hòa tan trong 10,0 ml nước muối sinh lý (bảo quản trong tủ lạnh từ 2 - 8 $^{\circ}\text{C}$).

Pha dung dịch nọc rắn thử nghiệm: Từ dung dịch nọc rắn gốc pha loãng bằng nước muối sinh lý để được dung dịch có nồng độ 250 $\mu\text{g/ml}$ hoặc 500 $\mu\text{g/ml}$ (tùy theo độc lực của nọc rắn).

Từ dung dịch nọc rắn thử nghiệm tiến hành pha loãng cách nhau 1,1 hoặc 1,4 lần thành các độ pha liên tiếp, sao cho sau khi tiêm độ pha loãng thấp nhất chuột phải chết 100 % và độ pha loãng cao nhất chuột phải sống 100 % (sau khi pha xong lắc đều và để ở 37 $^{\circ}\text{C}$ trong 30 min, tránh ánh sáng).

Tiêm tĩnh mạch đuôi chuột với liều 0,5 ml/con. Mỗi độ pha tiêm 6 chuột.

Theo dõi kết quả sau 24 h đến 48 h, theo dõi số chuột sống chết trong mỗi độ pha.

Tính kết quả theo công thức Spearman-Kärber:

$$\text{Lg } \text{LD}_{50} = X_0 + d/2 - d \times (\sum r_i/n)$$

Trong đó:

X_0 là lg của nồng độ nọc rắn thấp nhất gây ra chuột chết 100 %;

d là lg của bậc pha loãng;

r_i là số chuột chết của mỗi độ pha loãng;

n là số chuột được tiêm của mỗi độ pha loãng.

$$\text{LD}_{50} = \text{AntilogLD}_{50}$$

* Xác định hiệu giá huyết thanh kháng nọc rắn:

Chuẩn bị dung dịch nọc rắn có chứa 20 LD_{50}/ml : Từ dung dịch nọc rắn gốc (1000 $\mu\text{g/ml}$, giữ ở 2 - 8 $^{\circ}\text{C}$), pha bằng nước muối sinh lý để có dung dịch chứa 20 LD_{50}/ml .

Chuẩn bị huyết thanh kháng nọc rắn thử nghiệm: Huyết thanh thử nghiệm (không pha loãng hoặc pha loãng 2 lần, 3 lần, 4 lần... trong trường hợp huyết thanh kháng nọc rắn có hiệu giá cao trên 200 LD_{50}) được lựa chọn tối thiểu 5 độ pha có nồng độ huyết thanh cách nhau liên tiếp 1,1 hoặc 1,4 lần sao cho sau khi trung hòa với một lượng nọc rắn cố định thì mức nồng độ huyết thanh cao nhất phải bảo vệ được 100 % số chuột được tiêm và mức nồng độ huyết thanh thấp nhất gây chết 100 % số chuột được tiêm.

Trung hòa:

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống:

2,5 ml dung dịch nọc rắn chứa 20 LD_{50} .

Một thể tích thay đổi đã lựa chọn của huyết thanh thử nghiệm.

Một lượng nước muối sinh lý để vừa đủ 5,0 ml trong mỗi ống.

Lắc nhẹ các ống nghiệm, trung hòa ở nhiệt độ 37 $^{\circ}\text{C}$ trong 30 min, tránh ánh sáng. Tiêm 0,5 ml/chuột vào tĩnh mạch đuôi. Dùng 6 chuột cho mỗi độ pha. Theo dõi kết quả sau 24 h đến 48 h.

Tính liều bảo vệ 50 % (ED_{50}) theo công thức Spearman-Kärber:

$$\text{Lg } \text{ED}_{50} = X_0 + d/2 - d \times (\sum r_i/n)$$

Trong đó:

X_0 là lg của nồng độ huyết thanh thử nghiệm ít nhất bảo vệ được 100 % chuột;

d là lg của bậc pha loãng;

r_i là số chuột sống của mỗi dung dịch trung hòa;

n là số chuột được tiêm của mỗi dung dịch trung hòa.

$$\text{ED}_{50} = \text{AntilogED}_{50}$$

* Xác định số LD_{50} trung hòa (nhóm chứng): Từ dung dịch nọc rắn chứa 20 LD_{50}/ml pha loãng thành các độ pha 1/20; 1/14; 1/10; 1/7 và 1/5 (nếu xác định số LD_{50} , sử dụng hệ số pha loãng $d = 1,4$), hoặc 1/12,1; 1/11; 1/10; 1/9,1; 1/8,3 (nếu xác định LD_{50} sử dụng hệ số pha loãng $d = 1,1$) bằng nước muối sinh lý. Lắc nhẹ các ống, để ở 37 $^{\circ}\text{C}$ trong

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

30 min, tránh ánh sáng. Tiêm 0,5 ml vào tĩnh mạch đùi cho mỗi chuột. Dùng 6 chuột cho mỗi độ pha. Theo dõi kết quả sau 24 - 48 h.

Tính số LD₅₀ trung hòa (tính T) theo công thức:

$$\lg T = - [X_0 + d/2 - d_x (\Sigma r_i/n)]$$

Trong đó:

X₀ là lg của nồng độ nọc rắn gây chết chuột 100%;

d là lg của bậc pha loãng;

r_i là số chuột chết của mỗi độ pha;

n là số chuột được tiêm của mỗi độ pha.

* Xác định hiệu giá (hay tính số LD₅₀ có trong 1 ml huyết thanh thử nghiệm):

$$\text{Hiệu giá} = (T - 1)/ED_{50}$$

Trong đó:

T là số LD₅₀ dùng để trung hòa trong 1 liều tiêm;

ED₅₀ là liều bảo vệ 50 %.

Tiêu chuẩn

Thử nghiệm xác định hiệu giá chỉ có giá trị khi T nằm trong khoảng từ 4 đến 6.

Hiệu giá của huyết thanh thử nghiệm phải không nhỏ hơn 1000 LD₅₀/lọ.

An toàn chung

Huyết thanh kháng nọc rắn phải đạt yêu cầu về thử nghiệm 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

Không lớn hơn 15 % (Phụ lục 15.18).

Thimerosal

Không lớn hơn 0,01 % (Phụ lục 15.29).

Natri clorid

Từ 0,85 % đến 0,9 % (Phụ lục 15.26).

pH

6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Đóng gói, bảo quản

Mỗi lọ đóng từ 2,0 ml đến 5,0 ml hoặc dạng đông khô, tùy theo nhà sản xuất.

Bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

HUYẾT THANH KHÁNG UỐN VÁN

Immunoserum tetanicum ad usum humanum

Huyết thanh kháng độc tố uốn ván là chế phẩm có chứa globulin kháng độc tố, có khả năng trung hòa đặc hiệu độc tố của *Clostridium tetani*.

Nhận dạng

Huyết thanh kháng độc tố uốn ván trung hòa đặc hiệu

HUYẾT THANH MIỄN DỊCH VIÊM GAN B

ngoại độc tố của *Clostridium tetani*, 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 độc tố uốn ván 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 uốn ván được thể hiện bằng số đơn vị quốc tế trong 1 ml (IU/ml).

Tiêu chuẩn: Không nhỏ hơn 1000 IU/ml đối với loại dùng để phòng bệnh; không nhỏ hơn 3000 IU/ml đối với loại dùng để điều trị.

Số IU/ml huyết thanh kháng độc tố uốn ván được xác định bằng phương pháp trung hòa trên chuột nhắt (Phụ lục 15.16).

Bảo quản

Huyết thanh kháng độc tố uốn ván cần được bảo quản trong điều kiện lạnh, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, không để đóng băng.

Nhãn

Các thông tin ghi trên nhãn phải đáp ứng các quy định hiện hành.

HUYẾT THANH MIỄN DỊCH VIÊM GAN B

Immunoglobulinum humanum hepatitis B

Huyết thanh miễn dịch viêm gan B dùng cho người là chế phẩm vô trùng dạng lỏng hoặc đông khô có chứa các globulin miễn dịch, chủ yếu là globulin miễn dịch lớp G, có khả năng trung hòa đặc hiệu kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B (HBsAg).

Sản xuất

Huyết thanh miễn dịch viêm gan B dùng cho người được sản xuất từ huyết tương của người cho đã được gây miễn dịch, có nồng độ kháng thể cao chống lại HBsAg. Huyết thanh miễn dịch cần phải được tách chiết để lượng globulin đạt được hàm lượng theo quy định và loại bỏ được các protein không cần thiết. Có thể cho thêm chất bảo quản vào thành phẩm. Đối với huyết thanh miễn dịch dạng đông khô, độ ẩm tồn dư không được quá 3 % (kl/kl).

Tính chất

Huyết thanh miễn dịch viêm gan B ở dạng lỏng phải không có màu hoặc màu vàng nhạt, không có cặn. Có thể đục nhẹ trong quá trình bảo quản.

Huyết thanh miễn dịch viêm gan B ở dạng đông khô là bột màu trắng hoặc vàng nhạt, có dạng rắn hoặc xốp.

Các thử nghiệm kiểm định

Nhận dạng (Phụ lục 15.10)

Thử nghiệm nhận dạng huyết thanh miễn dịch viêm gan B được kiểm tra bằng kỹ thuật điện di miễn dịch hoặc khuếch