

VẮC XIN BẠCH HẦU HẤP PHỤ

Vaccinum diphtheriae adsorbatum

Vắc xin bạch hầu hấp phụ được điều chế từ độc tố bạch hầu đã xử lý bằng formaldehyd và nhiệt độ để mất tính độc mà vẫn còn tính sinh miễn dịch, chứa ít nhất 1500 Lf/mg protein nitrogen và hấp phụ với một tá chất thích hợp như muối nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd trong dung dịch natri clorid 0,85 %. Có thể cho thêm chất bảo quản thích hợp.

Sản xuất

Chủng *Corynebacterium diphtheriae* dùng cho sản xuất phải tuân thủ quy định về hệ thống chủng được nuôi cấy trong môi trường lòng thích hợp. Ở cuối giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những mẻ nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông. Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và tinh chế theo phương pháp thích hợp.

Kiểm tra giải độc tố tinh chế về độc tính đặc hiệu, tính hồi độc, độ sạch kháng nguyên trước khi dùng điều chế vắc xin thành phẩm.

Giải độc tố tinh chế bán thành phẩm

Chủng sản xuất phải có độc tính cao, biết rõ về nguồn gốc và lịch sử chủng. Môi trường nuôi cấy chứa độc tố bạch hầu cần được tách xác tế bào vi khuẩn càng sớm càng tốt. Xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông để giám sát tính ổn định trong sản xuất. Giải độc tố bạch hầu được tinh chế để loại bỏ các thành phần có thể gây các phản ứng phụ cho người. Độc tố sau khi tinh chế sẽ được bất hoạt bằng formaldehyd theo phương pháp thích hợp sao cho không ảnh hưởng đến khả năng sinh miễn dịch của giải độc tố và không bị hồi độc. Tuy nhiên, có thể lựa chọn quy trình tinh chế sau khi giải độc.

Chỉ có những giải độc tố tinh chế bán thành phẩm đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được sử dụng để pha vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô trùng

Tiến hành kiểm tra tính vô trùng của giải độc tố bạch hầu tinh chế bán thành phẩm với 10 ml mẫu cho mỗi môi trường kiểm tra (Phụ lục 15.7).

An toàn đặc hiệu: Tiêm dưới da 1 ml giải độc tố tinh chế có chứa 500 Lf/ml/con cho 5 chuột lang khỏe mạnh cân nặng 250 g/con đến 350 g/con, chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích gì trước đó. Theo dõi và kiểm tra cân nặng chuột trong 6 tuần. Những chuột chết sẽ phải mổ kiểm tra các dấu hiệu nhiễm độc tố bạch hầu (tuyến thượng thận sưng đỏ). Giải độc tố tinh chế đạt yêu cầu an toàn đặc hiệu khi không có chuột lang nào có dấu hiệu nhiễm độc tố bạch hầu trong 6 tuần theo dõi và có ít nhất 80 % chuột sống sót trong giai đoạn thử nghiệm.

Tính hồi độc của giải độc tố bạch hầu: Giải độc tố bạch

hầu tinh chế phải được kiểm tra để đảm bảo không bị hồi độc. Sử dụng dung dịch đệm giống như dung dịch pha vắc xin bán thành phẩm cuối cùng nhưng không có chất hấp phụ để pha mẫu giải độc tố bạch hầu tinh chế bán thành phẩm thành huyền dịch chứa 35 Lf/ml. Chia thành 2 mẫu thử, trong đó một mẫu ủ ở $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ trong 6 tuần và mẫu kia ủ ở 37°C trong 6 tuần. Tiêm dưới da 5 ml/con, mỗi mẫu tiêm cho 5 chuột lang khỏe mạnh cân nặng 250 g/con đến 350 g/con, chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích gì trước đó. Thử nghiệm đạt yêu cầu khi cả 2 nhóm chuột đều khỏe mạnh, không có chuột lang nào có dấu hiệu nhiễm độc tố bạch hầu trong 6 tuần theo dõi.

Độ tinh sạch của kháng nguyên bạch hầu

Giải độc tố bạch hầu tinh chế phải được kiểm tra độ tinh sạch của kháng nguyên bằng cách kiểm tra hàm lượng kháng nguyên bằng đơn vị Lf/mg nitrogen protein. Hàm lượng kháng nguyên được kiểm tra bằng cách so sánh với mẫu chuẩn đã được hiệu chuẩn bởi giải độc tố bạch hầu mẫu chuẩn quốc tế dành cho thử nghiệm lên bông hoặc mẫu chuẩn quốc gia tương đương.

Giải độc tố bạch hầu tinh chế đạt yêu cầu khi chứa không được ít hơn 1500 Lf/mg nitrogen protein.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được pha chế từ giải độc tố bạch hầu tinh chế, cho thêm nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd với hàm lượng thích hợp. Có thể cho thêm chất bảo quản. Chỉ những vắc xin bán thành phẩm cuối cùng đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được phép tiếp tục sản xuất thành vắc xin thành phẩm.

Chất bảo quản

Xác định hàm lượng chất bảo quản bằng phương pháp hóa học thích hợp. Hàm lượng chất bảo quản trong vắc xin bán thành phẩm phải đạt ít nhất là 85 % và không được quá 115 % so với lượng dự kiến cho vào (Phụ lục 15.29).

Vô trùng

Tiến hành kiểm tra tính vô trùng của vắc xin bán thành phẩm cuối cùng với 10 ml mẫu cho mỗi môi trường kiểm tra (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng

Thực hiện ít nhất trên một lọ vắc xin đã được dán nhãn. Nhận dạng giải độc tố bạch hầu bằng thử nghiệm lên bông như mô tả trong Phụ lục 15.19.

Vô trùng

Vắc xin không nhiễm vi khuẩn và nấm (Phụ lục 15.7).

Công hiệu

Thực hiện theo Phụ lục 15.23.

Tiêu chuẩn: Công hiệu của vắc xin bạch hầu dùng để tiêm trẻ em được coi là đạt yêu cầu khi không thấp hơn 30 IU đối với một liều đơn. Đối với các thử nghiệm sử dụng 3 độ pha loãng, giới hạn khoảng tin cậy 95 % của công hiệu

phải nằm trong khoảng 50 % đến 200 % hoặc giới hạn dưới khoảng tin cậy 95 % của giá trị công hiệu phải lớn hơn 30 IU đối với một liều đơn cho người.

An toàn chung

Tiêm vắc xin bạch hầu với 1 liều tiêm cho người vào ổ bụng cho mỗi con trong số 5 chuột nhắt trắng khỏe mạnh, cân nặng 17 g/con đến 22 g/con và chưa sử dụng với bất cứ mục đích gì trước đó; tiêm ít nhất 1 liều tiêm cho người nhưng không nhiều hơn 1 ml vào ổ bụng cho mỗi chuột trong số 2 chuột lang khỏe mạnh, cân nặng 250 g/con đến 350 g/con và chưa sử dụng với bất cứ mục đích gì trước đó. Vắc xin đạt tính an toàn chung, không có độc tính bất thường nếu toàn bộ chuột thử nghiệm đều khỏe mạnh, lên cân và không có biểu hiện nhiễm độc trong 7 ngày theo dõi.

Chất bảo quản

Hàm lượng thimerosal không ít hơn 85 % hoặc không nhiều hơn 115 % so với lượng ghi trên nhãn (Phụ lục 15.29).

Nhôm

Không quá 1,25 mg nhôm trong một liều đơn vắc xin cho người (Phụ lục 15.27).

pH

6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Cảm quan

Mỗi loại vắc xin thành phẩm sau khi sản xuất phải được kiểm tra bằng cảm quan để đảm bảo các lọ hay ống vắc xin trước khi xuất xưởng đều phải đạt yêu cầu, không có dấu hiệu bất thường về cảm quan như: vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn. Trong quá trình kiểm tra, nếu ống hay lọ nào thấy không đạt yêu cầu cần được loại bỏ.

Bảo quản, hạn dùng

Khi bảo quản ở điều kiện quy định, vắc xin có thể giữ được công hiệu 3 năm kể từ ngày chuẩn độ công hiệu.

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.

VẮC XIN BẠCH HẦU, UỐN VÁN HẤP PHỤ DÙNG CHO NGƯỜI LỚN VÀ VỊ THÀNH NIÊN

Vaccinum Diphtheriae et Tetani ad usum adulti et adolescentis adsorbatum

Vắc xin bạch hầu, uốn ván hấp phụ là vắc xin phối hợp, được điều chế từ độc tố bạch hầu và độc tố uốn ván. Các độc tố này được sinh ra trong quá trình nuôi cấy *Corynebacterium diphtheriae* hoặc *Clostridium tetani*, sau đó xử lý bằng formaldehyd và nhiệt độ để làm mất tính độc, trở thành giải độc tố mà vẫn còn khả năng sinh miễn dịch. Các giải độc tố được hấp phụ với tá chất thích hợp như nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd.

Sản xuất giải độc tố bạch hầu tinh chế bán thành phẩm

Chúng dùng sản xuất ra độc tố bạch hầu cần phải tuân thủ quy định về hệ thống giống chủng. Chủng *Corynebacterium diphtheriae* có tính độc cao đã biết rõ nguồn gốc và lịch sử, được nuôi cấy trong môi trường lỏng phù hợp. Kết thúc giai đoạn nuôi cấy, từng mẻ nuôi cấy được kiểm tra độ sạch để loại bỏ những mẻ bị nhiễm tạp. Độc tố được chiết tách vô khuẩn để loại bỏ xác vi khuẩn. Thông qua việc xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) có thể giám sát được tính ổn định trong sản xuất.

Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại rồi giải độc và tinh chế. Quá trình tinh chế có thể thực hiện trước hoặc sau quá trình giải độc. Việc tinh chế độc tố nhằm loại bỏ các thành phần gây ra những phản ứng phụ ở người. Độc tố tinh chế được giải độc bằng formaldehyd theo phương pháp thích hợp (thông thường bằng nhiệt) nhằm tránh sự phá hủy khả năng sinh miễn dịch của giải độc tố và tránh hồi độc. Chỉ những giải độc tố tinh chế bán thành phẩm đạt những tiêu chuẩn quy định mới được dùng để pha chế thành vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô trùng

Cần tiến hành thử nghiệm vô trùng với ít nhất một lượng mẫu thử 10 ml trên mỗi loại môi trường.

An toàn đặc hiệu (xác định sự không có mặt của độc tố)

Tiêm dưới da 1 ml giải độc tố tinh chế chứa ít nhất 500 Lf (mỗi chuột) cho 5 chuột lang khỏe mạnh có cân nặng 250 g/con đến 350 g/con, chưa dùng cho thử nghiệm nào trước đó. Theo dõi chuột trong 42 ngày, thử nghiệm đạt yêu cầu nếu như không có chuột nào chỉ ra dấu hiệu hoặc bị chết do nhiễm độc tố bạch hầu. Nếu nhiều hơn 1 con chuột lang chết không rõ nguyên nhân, thử nghiệm cần nhắc lại. Nếu trong lần thử thứ hai có nhiều hơn 1 chuột chết, giải độc tố đó không đạt yêu cầu về an toàn.

Tính hồi độc

Pha loãng giải độc tố tinh chế trong dung dịch đệm để có hàm lượng tương đương với hàm lượng giải độc tố bạch hầu trong vắc xin thành phẩm. Chia mẫu thử thành 2 phần tương đương nhau rồi giữ ở 2 nhiệt độ (5 ± 3) °C và 37 °C trong 6 tuần.

Cả 2 mẫu thử được kiểm tra bằng cách tiêm dưới da 5 ml (mỗi chuột) cho 5 chuột lang có cân nặng mỗi chuột từ 250 g đến 350 g. Theo dõi chuột trong 6 tuần. Giải độc tố bạch hầu đạt yêu cầu, nếu kết quả kiểm tra của các mẫu thử không chỉ ra sự có mặt của độc tố bạch hầu.

Độ sạch kháng nguyên: Không ít hơn 1500 Lf/mg nito protein.

Sản xuất giải độc tố uốn ván tinh chế bán thành phẩm

Chúng dùng sản xuất ra độc tố uốn ván cần phải tuân thủ quy định về hệ thống giống chủng. Chủng *Clostridium tetani* có tính độc cao đã biết rõ về nguồn gốc và lịch sử, được nuôi cấy trong môi trường lỏng phù hợp. Kết thúc giai đoạn nuôi cấy, mỗi mẻ nuôi cấy được kiểm tra độ thuần khiết để loại bỏ những mẻ bị tạp nhiễm. Môi trường có độc tố được chiết tách vô khuẩn để loại bỏ xác vi khuẩn.