

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.

Thông qua việc xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) có thể giám sát được tính ổn định trong sản xuất.

Các mẻ găt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc và tinh chế. Quá trình tinh chế có thể thực hiện trước hoặc sau quá trình giải độc. 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, nhằm tránh sự phá hủy khả năng sinh miễn dịch của giải độc tố và tránh việc hồi phục độc lực, thông thường dùng phương pháp nhiệt.

Chỉ những giải độc tố uốn ván 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 (Phụ lục 15.7).

An toàn đặc hiệu (xác định sự không có mặt của độc tố): Tiêm dưới da giải độc tố tinh chế chứa ít nhất 500 Lf cho mỗi chuột trong 5 chuột lang khỏe mạnh có cân nặng 250 g/con đến 350 g/con mà chưa dùng cho thử nghiệm nào trước đó. Theo dõi chuột trong 21 ngày, thử nghiệm đạt yêu cầu nếu như không có chuột nào chỉ ra dấu hiệu liệt hoặc bị chết bởi độc tố uốn ván. Nếu nhiều hơn 1 con chuột chết không rõ nguyên nhân, thử nghiệm cần nhắc lại. Nếu trong lần thử thứ 2 có nhiều hơn 1 chuột chết hoặc liệt, giải độc tố uốn ván đó không đạt yêu cầu về an toàn.

Tính hồi độc

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

Cả 2 mẫu thử được kiểm tra bằng việc tiêm dưới da cho 5 chuột lang, mỗi con có cân nặng 250 g đến 350 g, liều tiêm 5 ml/con. Theo dõi trong 21 ngày. Giải độc tố đạt yêu cầu nếu kết quả kiểm tra của các mẫu thử không chỉ ra sự có mặt của độc tố uốn ván.

Độ sạch kháng nguyên: Không ít hơn 1000 Lf/mg nito protein.

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được điều chế bằng cách cho giải độc tố tinh chế bạch hầu và giải độc tố tinh chế uốn ván hấp phụ với nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd. Cho thêm chất bảo quản, thông thường dùng thimerosal. Không sử dụng phenol là loại gây ảnh hưởng có hại cho hoạt tính kháng nguyên.

Chỉ những vắc xin bán thành phẩm cuối cùng đạt những tiêu chuẩn quy định mới được dùng để pha chế 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 không ít hơn

85 % và không nhiều hơn 115 % so với lượng ghi trên nhãn (Phụ lục 15.29).

Vô trùng

Cần tiến hành thử nghiệm vô trùng với lượng mẫu thử 10 ml trên mỗi loại môi trường (Phụ lục 15.7).

Công hiệu

Thử nghiệm công hiệu được thực hiện giai đoạn bán thành phẩm cuối cùng hoặc thành phẩm (Phụ lục 15.22 và Phụ lục 15.23).

An toàn đặc hiệu

Mỗi bán thành phẩm cuối cùng được kiểm tra an toàn đặc hiệu trong ít nhất 5 chuột lang chưa dùng thí nghiệm nào trước đó có cân nặng 250 g/con đến 350 g/con bằng cách tiêm dưới da một lượng tương đương với ít nhất 5 liều đơn tiêm cho người. Theo dõi chuột trong vòng 42 ngày. Chuột chết được mổ và kiểm tra các phủ tạng. Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu không có chuột lang nào chỉ ra dấu hiệu của tính độc đặc hiệu của độc tố uốn ván (biểu hiện liệt hoặc dấu hiệu khác của độc tố uốn ván) và ít nhất có 80 % động vật sống sót trong thời gian theo dõi.

Vắc xin thành phẩm

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được đóng vô trùng vào các lọ nhỏ. Các lọ vắc xin phải được đóng kín để phòng ngừa nhiễm khuẩn.

Chỉ những loại thành phẩm thỏa mãn các yêu cầu về các thử nghiệm như Tổ chức Y tế Thế giới và Tiêu chuẩn Việt Nam khuyến cáo mới được phép xuất xưởng để sử dụng.

Cảm quan

Mẫu kiểm định của mỗi loại thành phẩm sẽ phải được kiểm tra bằng mắt thường. Nếu kết quả kiểm tra cho thấy có sự bất thường, không theo đúng yêu cầu cần phải hủy bỏ.

Nhận dạng

Nhận dạng giải độc tố bạch hầu và uốn ván bằng thử nghiệm lên bông hoặc khuếch tán miễn dịch.

Công hiệu

Thành phần bạch hầu: Phương pháp tiến hành như đã mô tả trong phụ lục xác định công hiệu vắc xin bạch hầu hấp phụ. Giới hạn 95 % độ tin cậy của công hiệu được đánh giá là không ít hơn 2 IU/liều đơn cho người (Phụ lục 15.23).

Thành phần uốn ván: Phương pháp tiến hành như đã mô tả trong phụ lục xác định công hiệu vắc xin uốn ván hấp phụ. Giới hạn 95 % độ tin cậy của công hiệu được đánh giá là không ít hơn 20 IU/liều đơn cho người (Phụ lục 15.22).

Vô trùng

Đạt yêu cầu về tính vô trùng, không nhiễm vi khuẩn và nấm (Phụ lục 15.7).

An toàn chung: Phụ lục 15.11.

pH: 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Thimerosal

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

Nhôm

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

Muối natri clorid: Phụ lục 15.26.

Formaldehyd tồn dư: Phụ lục 15.25.

Bảo quản, hạn dùng

Hạn dùng của vắc xin phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận và cố định, dựa vào các số liệu nghiên cứu tính ổn định của vắc xin trên ít nhất 3 loạt liên tiếp (được sản xuất từ các bán thành phẩm riêng biệt).

Khi bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, vắc xin có hạn dùng là 3 năm kể từ ngày chuẩn độ công hiệu cuối cùng. Không được để vắc xin bị đông băng.

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 VÀ HO GÀ HẤP PHỤ (DTwP)

Vaccinum diphtheriae, tetani et pertussis adsorbatum

Vắc xin bạch hầu, uốn ván và ho gà là một hỗn hợp gồm các giải độc tố bạch hầu, uốn ván tinh chế hấp phụ và vắc xin ho gà toàn tế bào hấp phụ (DTwP).

Sản xuất giải độc tố bạch hầu

Vắc xin bạch hầu được sản xuất dựa vào hệ thống chủng gốc. Chủng *Corynebacterium diphtheriae* dùng cho sản xuất phải tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc và được nuôi cấy trên môi trường lỏng thích hợp. Cuối giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những loạt nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố bạch hầu (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.

Giải độc tố bạch hầu tinh chế được kiểm tra vô trùng, tính độc đặc hiệu, tính hồi độc, độ tinh sạch của kháng nguyên trước khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô trùng

Tiến hành thử nghiệm vô trùng trên môi trường canh thang Thioglycolat và Soybean Casein với mẫu giải độc tố bạch hầu tinh chế: 10 ml giải độc tố bạch hầu cho mỗi môi trường.

Cách tiến hành và tiêu chuẩn chấp thuận theo Phụ lục 15.7.

An toàn đặc hiệu

Tiêm dưới da ít nhất 500 Lf của giải độc tố bạch hầu tinh chế chứa trong thể tích 1 ml vào mỗi trong số 5 chuột lang khỏe mạnh, cân nặng 250 g/con đến 350 g/con chưa sử dụng vào bất cứ mục đích gì trước đó. Theo dõi chuột trong vòng 42 ngày sau tiêm, nếu thấy bất kỳ triệu chứng nào hay bị chết do độc tố bạch hầu thì lô giải độc tố bạch hầu tinh chế này không đạt về tính an toàn đặc hiệu.

VẮC XIN BẠCH HẦU, UỐN VÁN VÀ HO GÀ HẤP PHỤ (DTwP)

Nếu có hơn một chuột lang thử nghiệm bị chết trong thời gian theo dõi vì bất kỳ nguyên nhân nào thì phải nhắc lại thử nghiệm. Nếu có hơn một chuột lang thử nghiệm bị chết trong lần thử nghiệm thứ hai thì lô giải độc tố bạch hầu tinh chế này cũng không đạt về tính an toàn đặc hiệu.

Tính hồi độc

Sử dụng dung dịch đệm giống như dùng để pha vắc xin thành phẩm nhưng không có chất hấp phụ để pha loãng giải độc tố bạch hầu tinh chế sao cho có chứa hàm lượng giải độc tố tương đương như trong vắc xin thành phẩm (35 Lf/ml); chia thành 2 phần tương đương nhau và ủ mỗi phần của dung dịch này ở nhiệt độ khác nhau (5 ± 3) °C và 37 °C trong 6 tuần. Mỗi phần sau khi ủ được đưa ra kiểm tra tính hồi độc của độc tố bạch hầu bằng cách tiêm dưới da cho 5 chuột lang khỏe mạnh, cân nặng 250 g/con đến 350 g/con.

Giải độc tố bạch hầu tinh chế đạt yêu cầu về thử nghiệm tính hồi độc khi các chuột thử nghiệm đều khỏe mạnh, lên cân và không có chuột nào có dấu hiệu về phản ứng do 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 đạt không ít hơn 1500 Lf/mg nitrogen protein.

Sản xuất giải độc tố uốn ván

Vắc xin uốn ván được sản xuất dựa vào hệ thống chủng gốc. Chủng *Clostridium tetani* dùng cho sản xuất phải tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc và được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Cuối giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những loạt nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố uốn ván (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông. Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và nhiệt độ; tinh chế theo phương pháp thích hợp.

Số lượng Lf trong vắc xin uốn ván bán thành phẩm tùy thuộc vào công thức gốc của từng nhà sản xuất nhưng không được quá 25 Lf trong một liều đơn cho người nếu sử dụng nhiều hơn một liều cho phác đồ tiêm miễn dịch cơ bản.

Giải độc tố uốn ván tinh chế được kiểm tra vô khuẩn, tính độc đặc hiệu, tính hồi độc, độ tinh sạch của kháng nguyên trước khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô trùng

Tiến hành thử nghiệm vô trùng trên môi trường canh thang Thioglycolat và Soybean Casein với mẫu giải độc tố uốn ván tinh chế: 10 ml giải độc tố uốn ván tinh chế cho mỗi môi trường.

Cách tiến hành và tiêu chuẩn chấp thuận theo Phụ lục 15.7.

An toàn đặc hiệu

Tiêm dưới da ít nhất 500 Lf của giải độc tố uốn ván tinh chế chứa trong thể tích 1 ml vào mỗi chuột trong số 5 chuột lang khỏe mạnh, cân nặng 250 g/con đến 350 g/con chưa sử dụng vào bất cứ mục đích gì trước đó. Theo dõi