

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

chuột trong vòng 21 ngày sau tiêm, nếu thấy bất kỳ triệu chứng nào hay bị chết do độc tố uốn ván thì lô giải độc tố uốn ván tinh chế này không đạt về tính an toàn đặc hiệu. 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 uốn ván tinh chế này cũng không đạt về tính an toàn đặc hiệu.

Tính hồi độc

Sử dụng dung dịch đệm dùng để pha vắc xin thành phẩm nhưng không có chất hấp phụ để pha loãng giải độc tố uốn ván tinh chế sao cho có chứa hàm lượng giải độc tố tương đương như trong vắc xin thành phẩm (12,5 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 uốn ván bằng cách tiêm dưới da cho 5 chuột lang khỏe mạnh, cân nặng 250 g/con đến 350 g/con.

Giải độc tố uốn ván 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 uốn ván trong 3 tuần theo dõi.

Độ tinh sạch của kháng nguyên uốn ván

Giải độc tố uốn ván tinh chế phải đạt không ít hơn 1000 Lf/mg nitrogen protein.

Sản xuất nước cốt ho gà bất hoạt

Nước cốt ho gà được sản xuất dựa vào hệ thống chủng gốc. Chủng *Bordetella pertussis* dùng cho sản xuất vắc xin ho gà phải tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc và được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Việc lựa chọn chủng nuôi cấy, môi trường và phương pháp nuôi cấy thích hợp nhằm tạo ra vắc xin ho gà thành phẩm có được 3 ngưng kết nguyên 1; 2; 3. Từng chủng được nuôi cấy 24 h đến 72 h trong môi trường lỏng hoặc đặc. Không được dùng máu người hoặc các sản phẩm từ máu người trong bất kỳ môi trường nuôi cấy chủng ho gà nào để sản xuất vắc xin ho gà. Môi trường dùng trong giai đoạn nuôi cấy ho gà cuối cùng cũng không được phép có máu hoặc sản phẩm của máu.

Sau khi nuôi cấy, gặt và rửa sinh khối vi khuẩn ho gà để loại bỏ các chất còn tồn dư của môi trường nuôi cấy; pha thành hỗn dịch ho gà với nước muối sinh lý vô khuẩn thành hỗn dịch nước cốt ho gà cô đặc.

Tính thuần khiết của các mẻ gặt đơn

Lấy mẫu từ các mẻ gặt đơn để kiểm tra tính thuần khiết bằng phương pháp nhuộm soi kính hiển vi hoặc cấy vào môi trường nuôi cấy thích hợp. Các mẻ gặt đơn sẽ không được phép sử dụng vào việc pha chế bán thành phẩm khi phát hiện có nhiễm bất kỳ một loại gì khác vào sản phẩm.

Độ đục

Dùng bộ so độ đục chuẩn quốc tế hoặc đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 560 nm của hỗn dịch nước cốt ho gà cô

đặc (không được muộn hơn hai tuần sau khi gặt và trước khi huyền dịch vi khuẩn được đưa vào bất kỳ quy trình pha chế nào tiếp theo) để xác định đậm độ của nước cốt ho gà cô đặc. Đậm độ nước cốt ho gà được sử dụng làm cơ sở để tính toán khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Thành phần ho gà trong vắc xin DTP hỗn hợp không vượt quá 20 đơn vị độ đục quốc tế (IOU) trong một liều đơn vắc xin cho người. Tỷ lệ thành phần các chủng *B. pertussis* không được thay đổi khi hỗn hợp vắc xin, phải đăng ký rõ trong hồ sơ và được sự chấp thuận của cơ quan kiểm định quốc gia.

Độ sống sót

Hỗn dịch vi khuẩn ho gà được giết chết và giải độc bằng phương pháp được sự chấp thuận của cơ quan kiểm định quốc gia. Các hóa chất được sử dụng để giết chết và giải độc vi khuẩn ho gà cũng phải được sự chấp thuận bởi cơ quan kiểm định quốc gia. Hỗn dịch vi khuẩn ho gà được giết chết bằng nhiệt độ trong khoảng thời gian thích hợp và được kiểm tra sự sống sót của các vi khuẩn này trên môi trường Border - Gengou. Sau khi bất hoạt, nước cốt ho gà được bảo quản ở nhiệt độ (5 ± 3) °C trong một khoảng thời gian cần thiết để giảm bớt tính độc.

Mỗi loạt nước cốt ho gà đơn sẽ không được dùng để pha chế vắc xin bán thành phẩm khi không đạt các tiêu chuẩn về vô trùng, khả năng bất hoạt hoàn toàn (kiểm tra độ sống sót), nhận dạng, khả năng phát triển, ngưng kết như chủng gốc *B. pertussis*.

Phương pháp sản xuất phải được thẩm định để chứng minh rằng sản phẩm khi kiểm định sẽ tuân thủ và đạt được các tiêu chuẩn như mô tả dưới đây.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm

Vắc xin bán thành phẩm được pha chế và hỗn hợp bởi một lượng thích hợp của giải độc tố bạch hầu và giải độc tố uốn ván đã được hấp phụ bởi nhôm phosphat hydrat hoặc nhôm hydroxyd và hỗn hợp thêm một lượng thích hợp của huyền dịch *B. pertussis* đã được bất hoạt; kết quả của sự hỗn hợp này khi tiêm vào cơ thể phải phù hợp về mặt sinh lý với máu. Hàm lượng *B. pertussis* của vắc xin bán thành phẩm phải không được vượt quá 20 IOU cho một liều đơn cho người. Nếu sử dụng 2 hoặc nhiều hơn số chủng *B. pertussis* thì khi pha vắc xin bán thành phẩm phải tính toán sao cho tổng số đơn vị độ đục của các chủng ho gà đưa vào phải không thay đổi giữa các loạt vắc xin và không vượt quá 20 IOU cho một liều đơn cho người. Hàm lượng chất bảo quản trong vắc xin DTP hấp phụ phải không ảnh hưởng đến tính sinh miễn dịch của giải độc tố uốn ván, bạch hầu, vắc xin ho gà và không gây ra những phản ứng có hại cho người sử dụng.

Chỉ vắc xin bán thành phẩm cuối cùng nào tuân thủ và đạt các yêu cầu dưới đây mới được sử dụng để sản xuất thành phẩm.

Chất bảo quản kháng khuẩn

Xác định hàm lượng chất bảo quản kháng khuẩn trong

DUỘC ĐIỀN VIỆT NAM VI

vắc xin bán thành phẩm cuối cùng bằng phương pháp thích hợp. Hàm lượng chất bảo quản không được ít hơn 85 % và không được nhiều hơn 115 % của lượng chất bảo quản tiêu chuẩn cho vào vắc xin (Phụ lục 15.29).

Vô trùng

Tiến hành thử nghiệm vô trùng trên môi trường canh thang Thioglycolat và Soybean casein. Dùng 10 ml vắc xin để kiểm tra trên mỗi môi trường (Phụ lục 15.7).

Công hiệu

Tiến hành các thử nghiệm kiểm tra công hiệu theo Phụ lục 15.22; Phụ lục 15.23 và Phụ lục 15.24.

An toàn đặc hiệu

An toàn đặc hiệu của vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà toàn tế bào được kiểm tra trên mẫu bán thành phẩm cuối cùng hay vắc xin thành phẩm khi cần thiết (Phụ lục 15.4).

Đối với thành phần bạch hầu và uốn ván:

Chọn 5 chuột lang, có cân nặng mỗi chuột từ 250 g đến 350 g, tiêm dưới da một lượng vắc xin tương đương với ít nhất 5 liều đơn cho người. Theo dõi chuột hàng ngày. Vắc xin đạt yêu cầu nếu không có chuột lang nào có dấu hiệu liệt uốn ván hoặc triệu chứng nhiễm độc bạch hầu và ít nhất 80 % chuột sống trong thời gian 6 tuần. Nếu có chuột chết phải mổ để kiểm tra phủ tạng về dấu hiệu nhiễm độc bạch hầu (tuyến thượng thận đỏ).

Đối với thành phần ho gà:

Dùng ít nhất 20 chuột nhắt trắng, cân nặng mỗi chuột từ 14 g đến 16 g, cùng giới (nếu có cả 2 giới cần phân chia đều trong các nhóm) cho mỗi mẫu vắc xin thử và nhóm chứng. Mỗi chuột được tiêm vào ổ bụng 0,5 ml dung dịch chứa tối thiểu nửa liều đơn vắc xin cho người. Nhóm chứng được tiêm 0,5 ml nước muối sinh lý (tốt nhất chứa cùng hàm lượng chất bảo quản như có trong dung dịch tiêm cho nhóm thí nghiệm). Tổng khối lượng các nhóm chuột được xác định vào 72 h và 7 ngày sau tiêm. Vắc xin đạt yêu cầu nếu đạt cả 3 tiêu chuẩn sau:

Sau 72 h tổng khối lượng chuột không ít hơn trước tiêm.

Sau 7 ngày khối lượng trung bình mỗi chuột không ít hơn 60 % so với nhóm chứng.

Số chuột chết không quá 5 % tổng số chuột đã được tiêm.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng

Thành phần bạch hầu - uốn ván - ho gà toàn tế bào trong vắc xin DTWP hấp phụ được tách gel bằng cách cho thêm natri citrat ($C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$) với nồng độ 5 % ở 37 °C trong 48 h. Sau đó ly tâm 2000 r/min trong 15 min. Nước nổi được dùng để nhận dạng thành phần bạch hầu và uốn ván bằng phản ứng lên bông, cặn ly tâm dùng để nhận dạng thành phần ho gà có trong vắc xin bằng phản ứng ngưng kết trên phiến kính với các huyết thanh kháng ho gà đặc hiệu (Phụ lục 15.19).

Vô trùng

Đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

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

An toàn chung

Thử nghiệm được tiến hành trên chuột nhắt trắng và chuột lang khỏe mạnh. Tiêm vào ổ bụng cho 5 chuột nhắt trắng có cân nặng mỗi chuột 17 g/con đến 22 g/con, mỗi con tiêm ít nhất một liều tiêm cho người nhưng không quá 1 ml; tiêm vào ổ bụng 2 chuột lang có cân nặng mỗi chuột 250 g đến 350 g; mỗi con một liều tiêm cho người nhưng không quá 1 ml/con.

Vắc xin được coi là không có độc tính bất thường nếu tất cả các động vật thí nghiệm sống khỏe mạnh và lên cân trong thời gian ít nhất 7 ngày thử nghiệm và không có dấu hiệu nhiễm độc.

Công hiệu

Tiến hành kiểm tra ở mẫu vắc xin DTWP thành phẩm khi chưa kiểm tra công hiệu trên vắc xin bán thành phẩm hoặc khi có chỉ định cần thiết (Phụ lục 15.22; 15.23; 15.24).

Tính chất vật lý, hóa học

Cảm quan:

Kiểm tra hình dạng bên ngoài của vắc xin bằng mắt thường: Huyền dịch vắc xin chia thành 2 lớp, phần dung dịch phía trên trong suốt không màu hoặc vàng nhạt; lớp lắng cặn dưới đáy lọ có màu trắng xám.

Nhanh chóng tạo huyền dịch đồng nhất sau khi lắc nhẹ, không lẫn chất lạ.

Tính chất vật lý:

Thể tích vắc xin mỗi lọ: Thể tích ghi trên nhãn +10 %.

Tỷ lệ loại bỏ:

Đối với vắc xin đa liều: Không quá 3 %.

Đối với vắc xin liều đơn: Không quá 5 %.

Không bị đông băng (tiêu chuẩn này chỉ kiểm tra sau khi bảo quản hay vận chuyển theo dây chuyền lạnh, không phải tiêu chuẩn xuất xưởng của nhà sản xuất): Lọ vắc xin mẫu thử phải có tốc độ lắng cặn chậm hơn nhiều so với lọ chứng dương và không có sự tạo hạt hay hình ảnh bông tuyết lơ lửng trong huyền dịch vắc xin hay kết thành cục sau khi lắc.

Chất bảo quản

Hàm lượng thimerosal cho phép là 0,005 % đến 0,02 % (Phụ lục 15.29).

Chất hấp phụ

Hàm lượng Al^{+++} trong vắc xin DTP hấp phụ không được quá 1,25 mg Al^{+++} /1 liều tiêm cho người (Phụ lục 15.27).

pH

6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Formaldehyd tồn dư

Không quá 0,02 % (Phụ lục 15.25).

Bảo quản, hạn dùng

Ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C vắc xin có thể giữ công hiệu 2,5 năm.

Nhà sản xuất phải đưa ra khuyến cáo về điều kiện bảo quản và vận chuyển vắc xin DTWP hấp phụ để đảm bảo rằng vắc xin đạt công hiệu theo yêu cầu cho đến khi hết hạn sử dụng

như đã đăng ký và ghi trên nhãn. Vắc xin DTaP hấp phụ phải được bảo quản sao cho không bị đông băng.

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 và không được quá 2,5 năm tính từ cuối thử nghiệm kiểm tra công hiệu (tính từ ngày tiêm miễn dịch trên động vật thí nghiệm).

Nhãn

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

VẮC XIN PHỐI HỢP BẠCH HẦU, UỐN VÁN, HO GÀ VÔ BÀO (DTaP) HẤP PHỤ

Vaccinum diphtheriae, tetani et pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum

Vắc xin bạch hầu, ho gà vô bào, uốn ván hấp phụ là một hỗn hợp bao gồm các kháng nguyên có khả năng bảo vệ được chế tạo từ giải độc tố bạch hầu, uốn ván và từng thành phần tinh khiết có tính kháng nguyên của vi khuẩn ho gà (*Bordetella pertussis*) được hấp phụ trên muối nhôm như nhôm hydroxyd hoặc nhôm phosphat hydrat. Khi lắc kỹ, hỗn hợp sẽ trở nên đồng nhất.

Sản xuất giải độc tố bạch hầu và giải độc tố uốn ván

Theo phần “Sản xuất giải độc tố bạch hầu” và phần “Sản xuất giải độc tố uốn ván” của chuyên luận Vắc xin phối hợp Bạch hầu, Uốn ván, Ho gà vô bào (DTaP) hấp phụ.

Sản xuất giải độc tố ho gà

Chủng sản xuất

Sử dụng chủng *Bordetella pertussis* pha I để sản xuất. Chủng *Bordetella pertussis* dùng để sản xuất vắc xin phải được tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc. Nếu sử dụng chủng *Bordetella pertussis* biến đổi ADN thì trình tự ADN đã biến đổi phải được mô tả rõ ràng, đầy đủ các đặc tính. Chủng sản xuất phải có các đặc tính như chủng gốc. Chủng có thể được bảo quản trong nitrogen lỏng hoặc đông khô.

Môi trường nuôi cấy: Không được dùng máu và các sản phẩm từ máu người trong bất kỳ môi trường nuôi cấy chủng ho gà nào để sản xuất vắc xin ho gà, kể cả giai đoạn cuối cùng. Môi trường nuôi cấy không được có bất kỳ tạp nhiễm nào. Thành phần kháng nguyên có tính bảo vệ được tinh chế bằng các phương pháp hóa học như: Cắt phân đoạn amoni sulfat, ly tâm theo gradient tỷ trọng của đường sucrose. Sau khi tinh chế, các kháng nguyên có tính bảo vệ này được giải độc bằng formaldehyd hoặc bằng phương pháp thích hợp khác để ức chế khả năng gây độc của chúng.

Kiểm tra sự thuần khiết của chủng vi khuẩn: Nuôi cấy các mẻ đơn trên môi trường thích hợp. Nhuộm Gram soi mẫu vi khuẩn từ tất cả các mẻ nuôi cấy đơn này. Nếu có bất kỳ tạp nhiễm nào, mẻ gạt đơn đó sẽ không được sử dụng vào việc pha chế bán thành phẩm và phải loại bỏ.

Vô trùng: Không phát hiện thấy nấm và tạp khuẩn (Phụ lục 15.7).

Đặc tính của các kháng nguyên

Tính ổn định của các thành phần riêng lẻ phải được thẩm định trong quá trình sản xuất theo các tiêu chuẩn dưới đây. Sau khi đã được thẩm định về tính ổn định, các thử nghiệm này không đòi hỏi phải được thực hiện ở mỗi loạt sản xuất.

Adenylat cyclase: Không được quá 500 ng/liều đơn cho người.

Độc tố tế bào khi quàn: Không được quá 2 pmol/liều đơn cho người.

Độc tố gây hoại tử da tổn dư: Tiêm trong da cho 3 chuột chưa cai sữa, mỗi chuột 0,1 ml với lượng kháng nguyên tương đương với 1 liều tiêm cho người của vắc xin. Theo dõi trong 48 h. Vắc xin được coi là đạt nếu không có phản ứng hoại tử da trên chuột.

Kiểm tra sự có mặt của độc tố ho gà (PT- pertussis toxin):

Sử dụng phương pháp *in vitro* như: Quan sát khả năng gây vón cục tế bào trứng của chuột đất vàng Trung Quốc hoặc phương pháp ngưng kết trên tế bào hồng cầu. Sử dụng các phương pháp *in vivo* như: Xác định sự hoạt động của yếu tố làm tăng lympho bào, yếu tố nhạy cảm với histamin, hoặc yếu tố làm tăng tiết insulin.

Tiêu chuẩn: Độc tố chỉ ra có hoạt tính sinh học của ADP-ribosyl khi sử dụng transducin như chất hấp phụ.

Kiểm tra sự có mặt của yếu tố gây ngưng kết hồng cầu dạng sợi: Sử dụng phương pháp ngưng kết trên tế bào hồng cầu hoặc phương pháp ức chế ngưng kết.

Tiêu chuẩn: Ngưng kết hoặc ức chế ngưng kết với kháng thể đặc hiệu.

Pertactin, fimbrial-2, fimbrial-3: Sử dụng phương pháp miễn dịch thích hợp.

Tiêu chuẩn: Có phản ứng với kháng thể đặc hiệu.

Giải độc tố ho gà: Xem xét khả năng tạo kháng thể của chuột có ức chế được khả năng gây độc của độc tố ho gà hay không.

Tiêu chuẩn: Giải độc tố khi tiêm cho chuột thì chuột tạo được kháng thể có khả năng ức chế tính độc của độc tố ho gà.

Độ tinh khiết của các kháng nguyên

Trước giải độc: Độ tinh khiết của các kháng nguyên đơn hoặc phối hợp được xác định bằng các phương pháp thích hợp như SDS-PAGE, sắc ký lỏng hoặc bằng các phương pháp phân tích phù hợp khác. Trong trường hợp có 2 kháng nguyên trở lên cùng được tinh chế thì tỷ lệ mỗi kháng nguyên phải được xác định bằng các phương pháp thích hợp như SDS-PAGE, phương pháp sắc ký lỏng, điện di trên gel không biến tính, đo tỷ trọng....và phải chứng minh được tỷ lệ đó tạo được hiệu quả cho vắc xin trên thử nghiệm lâm sàng.

Hàm lượng nội độc tố nhỏ hơn 100 IU/liều đơn cho người. Sử dụng phương pháp tạo gel hoặc phương pháp thích hợp khác (Phụ lục 13.2).