

Sản xuất chủng virus thử thách (CVS): Tiêm chủng CVS vào não chuột nhắt trắng, khối lượng từ 11 g đến 13 g, khi chuột có biểu hiện của nhiễm virus đại, nhưng trước khi chuột bị chết, tiến hành giết chuột và gặt não. Não chuột được nghiền nát và pha trong dung dịch phù hợp để có nồng độ cuối là 20 %. Chia hỗn dịch này thành các phần nhỏ trong các lọ, đậy kín và bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 60 °C (-60 °C).

Chuẩn độ chủng CVS: Làm tan băng 1 lọ chủng thử thách, pha loãng chủng ở các độ pha phù hợp. Mỗi độ pha của chủng CVS được tiêm vào não cho 10 chuột với liều 0,03 ml/chuột. Theo dõi chuột trong vòng 14 ngày sau tiêm. Tính LD₅₀ của chủng CVS theo công thức Reed - Muench dựa vào số chuột liệt hoặc chết, chỉ những chuột liệt hoặc chết sau ngày thứ 5 mới được tính.

Chất hấp phụ

Nếu chất hấp phụ được thêm vào vắc xin thì hàm lượng chất hấp phụ được xác định bằng phương pháp đã được phê duyệt.

Tiêu chuẩn: Theo quy định hiện hành.

Chất bảo quản

Nếu chất bảo quản được thêm vào vắc xin thì hàm lượng chất bảo quản được xác định bằng phương pháp đã được phê duyệt.

Tiêu chuẩn: Theo quy định hiện hành.

Đóng gói, bảo quản

Đóng gói: Bao gồm 1 lọ vắc xin đông khô và 1 lọ nước hồi chính.

Vắc xin đại tế bào được đóng dạng đông khô trong lọ thủy tinh trung tính.

Bảo quản: Vắc xin đại phải được bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

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.

Chỉ định, liều dùng

Dùng bơm tiêm hút toàn bộ nước hồi chính cho vào lọ vắc xin đông khô, lắc thật kỹ cho đến khi tan hoàn toàn. Vắc xin phải được tiêm ngay sau khi đã hồi chính, bơm kim tiêm phải được hủy bỏ ngay sau khi tiêm vắc xin.

Tiêm bắp vùng cơ delta, đối với trẻ em nên tiêm bắp đùi tốt hơn. Không tiêm vào những vùng có nhiều tổ chức lỏng lẻo dưới da.

Lịch tiêm vắc xin đại phụ thuộc vào từng đối tượng khác nhau. Có 3 nhóm đối tượng chính:

Tiêm dự phòng các đối tượng có nguy cơ cao (tiếp xúc với virus đại):

Tiêm 3 mũi cơ bản vào các ngày: 0, 7, 28.

Mũi tăng cường: sau 1 năm.

Cứ sau 5 năm, nhắc lại 1 lần.

Lịch tiêm vào ngày 28 có thể thay thế bằng lịch tiêm vào ngày 21.

Tiêm điều trị các đối tượng nghi ngờ hoặc chắc chắn bị nhiễm virus đại (chó cắn):

Nếu đối tượng bị cắn chưa có miễn dịch với virus đại:

Liều tiêm 0,5 ml, giống nhau giữa người lớn và trẻ em. Tiêm 5 mũi: lịch tiêm vào các ngày 0, 3, 7, 14, 28.

Trong trường hợp có nhiều vết cắn hoặc cào xước, nhiều nước bọt... thì phải tiêm thêm globulin miễn dịch đại ngay vào ngày 0 với liều lượng:

Globulin miễn dịch đại người: 20 IU/kg cân nặng. Globulin miễn dịch đại ngựa: 40 IU/kg cân nặng.

Vắc xin nên tiêm vào các vị trí đối diện với vị trí tiêm globulin miễn dịch.

Trong các trường hợp nặng, ví dụ do vết cắn rộng hoặc vết cắn gần thần kinh trung ương, thì tùy từng trường hợp cụ thể có thể tiêm liên 2 mũi vắc xin trong cùng một ngày 0.

Nếu đối tượng bị cắn đã có miễn dịch với virus đại: Trường hợp đã tiêm vắc xin trong vòng 5 năm: Tiêm tiếp 2 mũi vắc xin vào các ngày 0, 3.

Trường hợp đã tiêm vắc xin trên 5 năm hoặc tiêm nhưng không đầy đủ liệu trình: Nên áp dụng liệu trình tiêm giống như các đối tượng chưa có miễn dịch với virus đại.

VẮC XIN *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* TYP b CỘNG HỢP

Vaccinum haemophili stirpis b coniugatum

Vắc xin *Haemophilus influenzae* typ b (Hib) cộng hợp là một chế phẩm được tinh chế từ vỏ polysaccharid của vi khuẩn *H. influenzae* typ b, liên kết cộng hóa trị với protein mang (carrier protein).

Vỏ polysaccharid của Hib là một chuỗi polymer mạch thẳng gồm các đơn vị lặp lại của 3-β-D-ribofuranosyl (1→1)-D-ribitol-5-phosphat (PRP).

Protein mang là giải độc tố bạch hầu hoặc giải độc tố uốn ván hoặc độc tố bạch hầu của chủng đột biến đã mất tính độc (CRM197), hoặc phức hợp protein màng ngoài của vi khuẩn *Neisseria meningitidis* nhóm B.

Sản xuất

Chủng sản xuất

Chủng *H. influenzae* typ b dùng để sản xuất vắc xin *H. influenzae* typ b cộng hợp phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận. Chủng sản xuất phải có vỏ polysaccharid đặc hiệu và sản sinh với sản lượng ổn định trong quá trình sản xuất, có đáp ứng miễn dịch và an toàn khi sử dụng cho người.

Chỉ có những chủng đạt các đặc tính như sau mới có thể xem xét để sản xuất vắc xin: Trong môi trường nuôi cấy thích hợp phải có hình dạng đặc trưng của *H. influenzae*: trực khuẩn nhỏ, hiếu khí, Gram âm, không di động, không sinh nha bào, không làm tan máu, lên men đường glucose, không lên men đường lactose, sucrose, manose và phản ứng dương tính với catalase và indole.

Hệ thống chủng

Chủng gốc phải có hồ sơ chi tiết bao gồm nguồn gốc, các đặc tính sinh lý, sinh hóa, huyết thanh học và di truyền của chủng. Các nuôi cấy từ chủng sản xuất phải có cùng đặc tính như nuôi cấy từ chủng gốc và phải đạt các tiêu chuẩn như chủng gốc.

Nuôi cấy và mẻ gặt đơn

Sự phát triển của chủng *H. influenzae* týp b phải có tính ổn định bằng cách giám sát mật độ phát triển của vi khuẩn, pH của môi trường nuôi cấy và sản lượng polysaccharid. *H. influenzae* týp b được nuôi cấy trên môi trường lỏng không chứa các polysaccharid có phân tử lượng cao; nếu trong môi trường nuôi cấy chứa bất kỳ sản phẩm nào của máu thì phải chứng minh rằng chúng đã được loại bỏ sau khi tinh chế.

Sự thuần khiết của vi khuẩn trước khi bắt hoạt phải được kiểm tra theo phương pháp thích hợp, bao gồm nuôi cấy trên môi trường thạch đĩa phù hợp để kiểm tra đặc điểm hình thái, nhuộm Gram và ngưng kết với kháng huyết thanh đặc hiệu.

Polysaccharid tinh chế

Canh trùng nuôi cấy được bất hoạt. PRP được tách ra từ canh trùng nuôi cấy và tinh chế bằng phương pháp thích hợp. Mỗi lô polysaccharid đã tinh chế phải được kiểm tra độ thuần khiết. Polysaccharid tinh chế phải đạt các yêu cầu dưới đây mới được sử dụng để pha chế bán thành phẩm cộng hợp.

Nhận dạng: Dùng phương pháp huyết thanh học hoặc quang phổ cộng hưởng từ ^1H (hoặc ^{13}C): phải có mặt PRP.

Kích thước phân tử: Sử dụng phương pháp sắc ký lọc trên gel để xác định sự phân bố theo kích thước phân tử polysaccharid. Hệ số phân bố K_0 được xác định bằng cách dựa vào các pic chính của polysaccharid trên sắc ký đồ theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đã đăng ký và được phê duyệt đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Sắc ký lỏng cũng được sử dụng để xác định sự phân bố theo kích thước phân tử polysaccharid.

Độ ẩm: Phương pháp áp dụng phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận và phải chỉ ra được tính ổn định nằm trong giới hạn chấp thuận theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Thành phần polysaccharid: Được tiến hành theo phương pháp đã được phê chuẩn. Hàm lượng polysaccharid được tính thông qua hàm lượng đường ribose (sử dụng phương pháp Bial). Hàm lượng đường ribose không ít hơn 32,0 % so với khối lượng polysaccharid khô kiệt.

Hàm lượng phosphor: Sử dụng phương pháp Chen hoặc phương pháp khác đã được thẩm định. Hàm lượng phosphor phải từ 6,8 % đến 9,0 % so với khối lượng polysaccharid khô kiệt.

Protein tạp: Không quá 1,0 % so với khối lượng polysaccharid khô kiệt (xác định bằng phương pháp Lowry).

VẮC XIN *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* TÝP b CỘNG HỢP

Acid nucleic: Không quá 1,0 % so với khối lượng polysaccharid khô kiệt, được xác định bằng cách đo độ hấp thụ của acid nucleic ở bước sóng 260 nm hoặc phương pháp khác đã được thẩm định.

Nội độc tố vi khuẩn: Không quá 10,0 EU/ μg polysaccharid (Phụ lục 13.2).

Protein mang

Protein mang được sử dụng để tăng khả năng đáp ứng miễn dịch ở tế bào B và T. Chủng sản xuất protein mang (cộng hợp) phải có hồ sơ chủng bao gồm nguồn gốc chủng, các đặc tính sinh lý, sinh hóa. Sự phát triển của chủng phải cho thấy có tính ổn định bằng cách giám sát tỷ lệ mọc của vi khuẩn, pH của môi trường nuôi cấy và sản lượng.

Protein mang được sản xuất trên chủng vi khuẩn phù hợp, độ tinh khiết của canh trùng nuôi cấy phải được kiểm tra, canh trùng nuôi cấy được bất hoạt và được tinh chế bằng phương pháp thích hợp.

Chỉ protein mang đạt các chỉ tiêu dưới đây mới được sử dụng để pha chế bán thành phẩm cộng hợp.

Giải độc tố bạch hầu và uốn ván: Hàm lượng không nhỏ hơn 1500 LI/mg protein.

CRM197: Hàm lượng protein thuần khiết không nhỏ hơn 90,0 %.

Phức hợp protein màng ngoài của *Neisseria meningitidis* nhóm B: Hàm lượng protein không nhiều hơn 8,0 % khối lượng lipopolysaccharid.

Chất gây sốt

Đạt yêu cầu về chất gây sốt (Phụ lục 15.12). Tiêm tĩnh mạch tai thỏ với hàm lượng 0,25 $\mu\text{g/kg}$ khối lượng thỏ.

Bán thành phẩm cộng hợp

Bán thành phẩm cộng hợp chỉ được phép pha chế thành bán thành phẩm cuối cùng khi đạt các yêu cầu dưới đây:

Hóa chất tồn dư

Quy trình tinh chế sản phẩm cộng hợp cần phải loại bỏ hóa chất tồn dư, ví dụ: sản phẩm trung gian cyanid cần được tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định, đạt theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Chất đánh dấu cộng hợp

Xác định bằng số đơn vị lặp lại PRP hoặc hàm lượng PRP tổng số, đạt theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Các nhóm chức hoạt hóa tồn dư

Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định, đạt theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Hàm lượng PRP

Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định, đạt theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Hàm lượng PRP đã cộng hợp và PRP tự do

Hàm lượng PRP tự do nhỏ hơn 40,0 %, tùy thuộc vào từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Hàm lượng protein

Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định.

Tỉ lệ protein và PRP

Nằm trong giới hạn chấp thuận của của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Kích thước phân tử

Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định, ví dụ như lọc gel sepharose CL-4B, đạt theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Vô trùng

Đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

Độc tính đặc hiệu của protein mang trong sản phẩm cộng hợp

Bán thành phẩm cộng hợp không có độc tính đặc hiệu của protein mang (nếu protein mang là giải độc tố uốn ván hoặc giải độc tố bạch hầu).

Kiểm định bán thành phẩm cuối cùng

Tá dược, chất bảo quản hoặc chất ổn định được bổ sung với một lượng thích hợp bán thành phẩm cộng hợp để được bán thành phẩm cuối cùng. Bán thành phẩm cuối cùng chỉ được phép pha chế thành thành phẩm khi đạt yêu cầu sau:

Vô trùng

Đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Chỉ vắc xin thành phẩm đạt các yêu cầu dưới đây mới được phép xuất xưởng.

Nhận dạng

Dùng phương pháp miễn dịch học thích hợp, sử dụng kháng thể đặc hiệu kháng polysaccharid tinh khiết (khuếch tán miễn dịch kép Ouchterlony hoặc ELISA,...), cho phản ứng đặc hiệu.

Vô trùng

Đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

Hàm lượng PRP

Trong khoảng $\pm 20,0\%$ hàm lượng PRP ghi trên nhãn. Sử dụng phương pháp so màu hoặc phương pháp sắc ký lỏng.

Độ ẩm tồn dư

Không được quá $3,0\%$ (Phụ lục 15.35).

Chất gây sốt

Đạt yêu cầu về chất gây sốt. Tiêm tĩnh mạch tai thỏ với hàm lượng $0,025\ \mu\text{g}$ đến $1,0\ \mu\text{g}$ PRP/kg khối lượng thỏ (Phụ lục 15.12).

Tá chất

Nhôm: Không quá $1,25\ \text{mg}$ tính trên 1 liều đơn dùng cho người (Phụ lục 15.27).

Calci: Không quá $1,3\ \text{mg}$ tính trên 1 liều đơn dùng cho người. Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định.

Hàm lượng chất bảo quản

Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định, tiêu chuẩn phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận.

An toàn không đặc hiệu

Vắc xin đạt yêu cầu về an toàn không đặc hiệu khi tất cả các chuột thử nghiệm sống sót và tăng cân sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

pH

Đối với vắc xin là chế phẩm dạng lỏng: Giá trị pH nằm trong khoảng đã cho thấy là an toàn và hiệu quả trong thử nghiệm lâm sàng và nghiên cứu tính ổn định (Phụ lục 15.33).

Đối với vắc xin là chế phẩm đông khô: Tiến hành đo pH sau khi hoàn nguyên với dung dịch thích hợp.

Cảm quan

Quan sát bằng mắt thường, vắc xin không có dấu hiệu bất thường như: lỏng nút, nắp, hàn không đạt yêu cầu, nứt, vỡ, có vật thể lạ...

Bảo quản, hạn dùng

Nhiệt độ bảo quản từ $2\ ^\circ\text{C}$ đến $8\ ^\circ\text{C}$.

Các công bố về hạn sử dụng, nhiệt độ bảo quản sẽ phải dựa trên kết quả nghiên cứu về tính ổn định của vắc xin và phải được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Nhãn

Những thông tin ghi trên nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành và đặc biệt phải ghi đủ các thông tin về hàm lượng PRP; tên và hàm lượng của protein mang của 1 liều sử dụng cho người.

VẮC XIN NÃO MÔ CẦU POLYSACCHARID CỘNG HỢP

Vaccinum meningococcale polysaccharidum

Vắc xin não mô cầu có thể ở dạng polysaccharid đơn thuần hoặc cộng hợp, là một vắc xin có chứa polysaccharid tinh khiết đặc hiệu nhóm A, C, Y và/hoặc W135 liên kết cộng hóa trị với một protein mang.

Vắc xin não mô cầu cộng hợp là một chế phẩm vô trùng chứa kháng nguyên polysaccharid tinh khiết đặc hiệu nhóm, điều chế từ *Neisseria meningitidis* nhóm A, C, Y hoặc W135, liên kết đồng hóa trị với một giá mang là protein (giải độc tố uốn ván, giải độc tố bạch hầu, protein bạch hầu CRM197).

Tên quốc tế

“*Vaccinum meningococcale polysaccharidum*” tiếp đến là nhóm A, C, Y hoặc W135. Tên dịch ra tiếng địa phương phải phù hợp với tên quốc tế.

Sản xuất

Chủng sản xuất được sản xuất dựa trên hệ thống chủng giống gốc. Đã qua thử nghiệm lâm sàng cho thấy có thể tạo ra vắc xin an toàn và hiệu quả cho người.

Phương pháp sản xuất cần được thẩm định để chứng tỏ rằng sản phẩm tạo ra nếu đem kiểm tra sẽ đáp ứng các yêu