

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

cầu về độc tính bất thường của huyết thanh miễn dịch và vắc xin dùng cho người.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Bán thành phẩm cuối cùng được điều chế bằng cách trộn bán thành phẩm cộng hợp với chất hấp phụ (nếu được sử dụng), chất bảo quản và chất làm ổn định vắc xin sao cho phù hợp với thông số kỹ thuật về an toàn và công hiệu với loại vắc xin đã được thử nghiệm trên thực địa lâm sàng.

Cảm quan

Mỗi loại vắc xin thành phẩm sau khi sản xuất đều phải được kiểm tra bằng cảm quan đối với từng đơn vị đóng gói nhỏ nhất để đảm bảo: không có vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút phải chặt và nguyên vẹn. Trong quá trình kiểm tra, cần loại bỏ lọ vắc xin nếu thấy không đạt yêu cầu.

Nhận dạng

Có thể dùng thử nghiệm huyết thanh học sử dụng kháng thể đặc hiệu polysaccharid tinh khiết.

Vô trùng

Đạt yêu cầu về vô trùng (Phụ lục 15.7).

Hàm lượng saccharid

Hàm lượng saccharid của vắc xin phải được định lượng và nằm trong khoảng giới hạn đã được cơ quan kiểm định quốc gia của nước cấp phép chấp thuận. Các nhà sản xuất khác nhau có công thức pha chế vắc xin cộng hợp khác nhau nên hàm lượng này cũng có thể khác nhau. Các phương pháp đặc thù sao cho sản phẩm bao gồm thử nghiệm xác định gốc phosphorus như soi màu, sắc ký, phương pháp HPAEC-PAD có thể được sử dụng. Các thử nghiệm miễn dịch như nephelometry hoặc ELISA ức chế cũng có thể được sử dụng.

Tiêu chuẩn: Hàm lượng mỗi thành phần polysaccharid, từ 70 % đến 130 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng saccharid cộng hợp và saccharid tự do

Các phương pháp sắc ký ái nước tủa acid trên đá, tủa với kháng thể đặc hiệu protein mang, siêu ly tâm, lọc gel, siêu lọc đã được sử dụng. Hàm lượng saccharid tự do cũng có thể xác định bằng các thử nghiệm hóa học, miễn dịch học hoặc HPAEC sau khi thẩm tách.

Phân bố kích thước phân tử

Kích thước đặc hiệu của cộng hợp saccharid-protein thường được xác định bằng phương pháp lọc gel trên Sepharose-4B hoặc HPSEC (High Pressure Size Exclusion chromatography) với cột sắc ký phù hợp.

Độ ẩm

Nếu là vắc xin đông khô thì phải kiểm tra độ ẩm tồn dư theo phương pháp đã được cơ quan kiểm định quốc gia của nước cấp phép phê duyệt.

Thử nghiệm phải được tiến hành với tỷ lệ là 1/1000 lọ và không quá 10 lọ và không ít hơn 5 lọ. Độ ẩm tồn dư phải có giá trị trung bình không lớn hơn 2,5 % và không có lọ nào có độ ẩm lớn hơn hoặc bằng 3,0 % (Phụ lục 15.35).

Chất gây sốt

Chất gây sốt được kiểm tra bằng phương pháp tiêm đường tĩnh mạch cho thỏ. Liều tiêm như sau:

Vắc xin đơn giá: Tiêm 0,025 µg polysaccharid/1 ml/kg khối lượng thỏ.

Vắc xin đa giá:

Vắc xin chứa 2 nhóm kháng nguyên, tiêm 0,05 µg polysaccharid/1 ml/kg khối lượng thỏ;

Vắc xin chứa 3 nhóm kháng nguyên, tiêm 0,075 µg polysaccharid/1ml/kg khối lượng thỏ;

Vắc xin chứa 4 nhóm kháng nguyên, tiêm 0,10 µg polysaccharid/1 ml/kg khối lượng thỏ.

Tổng chênh lệch nhiệt độ của 03 thỏ không được quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Hàm lượng chất hấp phụ

Nếu vắc xin có chứa chất hấp phụ thì hàm lượng chất hấp phụ phải được xác định theo phương pháp đã được cơ quan kiểm định quốc gia của nước cấp phép phê duyệt.

Nếu vắc xin có chứa chất hấp phụ là nhôm thì hàm lượng nhôm tối đa có trong vắc xin không được quá 1,25 mg/liều đơn dùng cho người (Phụ lục 15.27).

Chất bảo quản

Các nhà sản xuất khác nhau có thể sử dụng các chất bảo quản khác nhau cho vắc xin và hàm lượng chất bảo quản phải được xác định theo phương pháp đã được cơ quan kiểm định quốc gia của nước cấp phép phê duyệt.

Nếu vắc xin có chứa chất bảo quản là thimerosal thì hàm lượng thimerosal tối đa có trong vắc xin không được quá 0,012 % (Phụ lục 15.29).

An toàn chung

Phải đảm bảo an toàn khi kiểm tra trên chuột lang và chuột nhắt trắng. Liều tiêm theo quy định đã được cơ quan quản lý phê duyệt.

Chuột phải tăng trọng bình thường và khoẻ mạnh trong 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

pH (Phụ lục 15.33)

Nếu vắc xin ở dạng lỏng thì pH phải nằm trong khoảng giá trị của lô vắc xin đã được thử nghiệm trên thực địa lâm sàng trước đây. Nếu là vắc xin đông khô thì phải kiểm tra pH sau khi pha với nước hồi chính.

Đóng gói vắc xin

Tùy theo từng nhà sản xuất và phải tuân thủ theo hồ sơ đăng ký đã được cơ quan quản lý của nước cấp phép chấp thuận.

Bảo quản

Vắc xin ở dạng lỏng hoặc đông khô đều phải được bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Hạn dùng

Tùy theo từng nhà sản xuất và phải tuân thủ theo hồ sơ đăng ký đã được cơ quan quản lý của nước cấp phép chấp thuận.

Nhãn

Theo quy định hiện hành. Cần ghi rõ tên polysaccharid (A, C, Y hoặc W135) có trong vắc xin và số mg polysaccharid có trong liều đơn dùng cho người.

VẮC XIN PHẾ CẦU

Vaccinum pneumococcale polysaccharidicum

Vắc xin phế cầu (dạng polysaccharid) là chế phẩm gồm 23 kháng nguyên vỏ polysaccharid tinh khiết pha với tỷ lệ bằng nhau của các chủng phế cầu *S. pneumoniae* (gọi tắt là kháng nguyên phế cầu): 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17A hoặc 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F. Vắc xin phế cầu là chế phẩm dạng lỏng, trong suốt và không màu.

Sản xuất

Chủng gốc và chủng sản xuất

Sản xuất vắc xin phải dựa vào hệ chủng giống cho từng loại tít. Chủng *S. pneumoniae* dùng để sản xuất vắc xin phế cầu polysaccharid phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận. Mỗi chủng phải có khả năng sản sinh polysaccharid của từng tít huyết thanh tương ứng với sản lượng ổn định, đủ đáp ứng miễn dịch và an toàn cho người. Mỗi chủng gốc phải có hồ sơ chủng (nguồn gốc chủng, các kết quả kiểm tra xác định các đặc tính, sinh lý, sinh hóa, huyết thanh học và di truyền của chủng...).

Canh trường nuôi cấy chủng sản xuất phải có những đặc tính giống chủng gốc: là vi khuẩn Gram dương, không di động, không sinh nha bào, quan sát dưới kính hiển vi có hình thái điển hình của *S. pneumoniae*, phát triển thích hợp ở 37 °C, khuẩn lạc trơn có vòng tan máu alpha; bị ly giải bởi muối mật, lên men inulin, nhạy cảm với optochin, dương tính với phản ứng Quellung.

Phương pháp sản xuất phải được thẩm định để chứng minh sản phẩm đạt yêu cầu về an toàn theo tiêu chuẩn vắc xin và huyết thanh miễn dịch dùng cho người.

Nuôi cấy và gặt

Các chủng sản xuất được nuôi cấy trên môi trường không chứa các thành phần tạo tủa khi tinh chế polysaccharid, các thành phần nhóm máu hoặc các polysaccharid có phân tử lượng lớn.

Sự thuần khiết của vi khuẩn trước khi tách chiết thu polysaccharid phải được kiểm tra theo phương pháp thích hợp. Nếu có sự nhiễm tạp, canh trường nuôi cấy bị hủy bỏ.

Bán thành phẩm đơn giá

Sau khi bất hoạt bằng phenol, các polysaccharid được tách và tinh chế bằng các phương pháp như tủa phân đoạn, thủy phân bằng enzym và siêu lọc, rửa, làm khô trong điều kiện chân không sao cho có độ ẩm thích hợp cho tính ổn định của polysaccharid và được bảo quản ở điều kiện thích hợp để tránh bị ẩm. Độ ẩm tồn dư được xác định bằng cách làm khô dưới áp suất giảm hoặc nhiệt và phải đạt yêu cầu so với mẫu đối chiếu.

Polysaccharid tinh chế phải đạt các chỉ tiêu dưới đây mới được sử dụng để pha chế bán thành phẩm cuối cùng:

Nhận dạng: Dùng phương pháp huyết thanh học (khuyếch tán miễn dịch kép hoặc điện di miễn dịch); dương tính với từng kháng nguyên phế cầu.

Thành phần polysaccharid: Theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất. Được xác định dựa trên khối lượng khô của polysaccharid hoặc phần trăm nitrogen tổng số, phosphorus, acid uronic, hexosamin, methyl pentose và nhóm O-acetyl bằng cách sử dụng các phương pháp so màu hoặc sắc ký trao đổi ion.

Protein tạp chất: Không được quá 3,0 % so với khối lượng polysaccharid. Xác định bằng phương pháp Lowry.

Acid nucleic tạp chất: Không được quá 2,0 % so với khối lượng polysaccharid. Xác định bằng cách đo độ hấp thụ của acid nucleic ở bước sóng 260 nm hoặc phương pháp khác đã được thẩm định.

Kích thước phân tử: Theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất. Xác định bằng phương pháp sắc ký lọc gel hoặc sắc ký trao đổi ion. Hằng số phân bố K_D được xác định bằng cách đo sự phân bố theo kích thước phân tử của polysaccharid của đỉnh (pic) chính của đường cong phân tách.

Vô trùng: Đạt yêu cầu về vô trùng (Phụ lục 15.7).

Độ đặc hiệu: Không có phản ứng chéo giữa từng kháng nguyên phế cầu với tất cả các kháng huyết thanh đặc hiệu kháng các kháng nguyên phế cầu còn lại có trong vắc xin phế cầu.

Kiểm định bán thành phẩm cuối cùng

Bán thành phẩm cuối cùng được điều chế bằng cách trộn bột polysaccharid của các tít khác nhau trong điều kiện vô trùng. Hỗn hợp đồng nhất được hòa vào dung dịch đẳng trương thích hợp sao cho một liều dùng cho người chứa 25 µg từng tít polysaccharid. Bán thành phẩm cuối cùng chỉ được phép pha chế thành thành phẩm khi đạt yêu cầu sau:

Vô trùng: Đạt yêu cầu về vô trùng (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng: Phải dương tính với từng kháng nguyên phế cầu. Sử dụng phương pháp miễn dịch học.

Vô trùng: Đạt yêu cầu về vô trùng (Phụ lục 15.7).

Hàm lượng polysaccharid: Trong khoảng $\pm 30,0$ % hàm lượng polysaccharid ghi trên nhãn. Xác định hàm lượng polysaccharid của từng kháng nguyên phế cầu và hàm lượng polysaccharid tổng số bằng phương pháp miễn dịch học hay phương pháp khác đã được thẩm định.

Chất bảo quản

Chất bảo quản kháng khuẩn: Trong khoảng 85 % - 115 % hàm lượng ghi trên nhãn. Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định.

Phenol: Không được quá 2,5 g/l. Xác định bằng phương pháp thích hợp.