

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

ghi rõ: số đơn vị sống tối thiểu của một viên vắc xin và chỉ dùng để uống.

Bảo quản:

Nhà sản xuất sẽ đưa ra điều kiện bảo quản và vận chuyển cho sản phẩm để đảm bảo rằng các dạng vắc xin này khi được bảo quản trong điều kiện thích hợp sẽ vẫn đạt được các tiêu chuẩn cho đến hết hạn sử dụng. Thông thường, vắc xin này ở dạng viên bọc gelatin sẽ phải được bảo quản trong điều kiện khô và tối ở $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Hạn dùng:

Hạn sử dụng của vắc xin dạng viên bọc không được quá 18 tháng tính từ ngày sản xuất. Nếu số liệu cho thấy tính ổn định của sản phẩm dài hơn thì hạn dùng có thể kéo dài hơn.

VẮC XIN THƯƠNG HẠN VI POLYSACCHARID

Vaccinum Vi polysaccharidi typhoidi

Vắc xin thương hàn Vi polysaccharid là một chế phẩm tinh chế từ vỏ Vi polysaccharid của vi khuẩn. Polysaccharid này được điều chế từ chủng *Salmonella typhi* Ty2 hoặc một chủng thích hợp khác có khả năng sản sinh ra Vi polysaccharid.

Vỏ Vi polysaccharid gồm các đơn vị lặp lại của acid N-acetyl- α -galactosaminuronic bằng liên kết 1-4, được acetyl hóa ở O-3.

Sản xuất

Chủng sản xuất

Chủng *Salmonella typhi* dùng để sản xuất vắc xin Vi polysaccharid phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận. Chủng này phải cho thấy có khả năng sản sinh ra Vi polysaccharid với sản lượng ổn định, đủ đáp ứng miễn dịch và an toàn cho người.

Phương pháp sản xuất phải được thẩm định và chứng minh rằng sản phẩm (nếu được kiểm tra) sẽ hoàn toàn đạt các yêu cầu về an toàn không đặc hiệu đối với huyết thanh miễn dịch và vắc xin cho người sử dụng.

Chỉ có chủng đạt các đặc tính như sau mới được dùng để sản xuất vắc xin: Nhuộm soi sau nuôi cấy phải có hình dạng đặc trưng của *S. typhi*; trong môi trường nuôi cấy, có lên men đường glucose nhưng không sinh hơi; oxidase âm tính; huyền dịch vi khuẩn ngưng kết đặc hiệu với huyết thanh kháng Vi thích hợp hoặc khuẩn lạc có quang sáng xung quanh trên môi trường thạch đĩa có chứa kháng huyết thanh đặc hiệu.

Sản xuất chủng gốc và chủng sản xuất

Chủng gốc sẽ phải được ghi chép bằng hồ sơ chủng, bao gồm cả nguồn gốc chủng và các đặc tính sinh hóa, huyết thanh học. Các nuôi cấy từ chủng sản xuất sẽ phải có cùng đặc tính như nuôi cấy từ chủng gốc. Chủng sản xuất phải đạt các tiêu chuẩn như chủng gốc.

Nuôi cấy và gặt

Sự phát triển của chủng *S. typhi* phải cho thấy có tính

VẮC XIN THƯƠNG HẠN VI POLYSACCHARID

ổn định bằng cách giám sát tỷ lệ mọc của vi khuẩn, pH của nuôi cấy và sản lượng của Vi polysaccharid. Thông thường nuôi cấy chủng ở 35°C đến 37°C . Chủng làm việc (chủng sản xuất, working seed) có thể nuôi cấy trên môi trường đặc, từ 12 h đến 18 h ở 35°C đến 37°C ; sau đó cấy chuyển sang môi trường lỏng (là canh khuẩn để cấy vào môi trường nuôi cấy cuối cùng). Môi trường nuôi cấy cuối cùng là môi trường bán tổng hợp, không chứa chất đã được kết tủa bởi cetrimoni bromid và không chứa các sản phẩm từ máu hoặc các polysaccharid có khối lượng phân tử cao, và ít nhất phải chứng minh rằng chúng đã được loại bỏ sau khi tinh chế.

Sự thuần khiết của vi khuẩn sau khi nuôi cấy phải được khẳng định bằng cách kiểm tra tiêu bản nhuộm soi dưới kính hiển vi (độ phóng đại ít nhất 1000 lần) và bằng nuôi cấy trong môi trường đặc thích hợp. Canh khuẩn nuôi cấy được bắt hoạt vào thời điểm bắt đầu pha ổn định bằng cách thêm formaldehyd. Các tế bào vi khuẩn phải được loại bỏ bằng cách ly tâm, polysaccharid được tủa từ môi trường nuôi cấy bằng cách thêm cetrimoni bromid (hexadecyltrimethyl-amoni bromid). Tủa polysaccharid được gặt và bảo quản ở -20°C trước khi tinh chế.

Tinh chế Vi polysaccharid

Polysaccharid được tinh chế bằng cách tủa với phức hợp cetrimoni bromid, dùng quy trình thích hợp để loại bỏ acid nucleic, các protein và lipopolysaccharid. Polysaccharid sẽ được tủa với muối calci trong sự có mặt của ethanol (TT) và làm khô ở 2°C đến 8°C . Bột thu được chính là Vi polysaccharid tinh chế. Độ ẩm tồn dư phải được kiểm tra theo phương pháp phân tích khối lượng và cho thấy thấp hơn so với mẫu chuẩn.

Chỉ Vi polysaccharid tinh chế đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được sử dụng để pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng:

Protein: Không quá 10 mg/g polysaccharid.

Acid nucleic: Không quá 20 mg/g polysaccharid.

O-Acetyl: Không thấp hơn 2 mmol/g polysaccharid.

Kích thước phân tử: Kiểm tra bằng sắc ký cột, dùng cột dài 0,9 m và đường kính trong 16 mm, chuẩn cột với dung dịch natri clorid 0,2 mol/kg, pH 7,0 đến 7,5. Dùng 5 mg polysaccharid cho vào 1 ml dung dịch natri clorid 0,2 mol/kg và rót vào cột, rửa giải với tốc độ 20 ml/h. Thu thập mẫu khoảng 2,5 ml. Kiểm tra điểm đáp ứng với $K_D = 0,25$ và làm 2 thể tích mẫu dung dịch rửa giải trước và sau điểm đáp ứng. Tiến hành xác định hàm lượng O-Acetyl của cả 2 mẫu trên. Không được thấp hơn 50 % polysaccharid được tìm thấy ở mẫu dung dịch rửa giải ra trước khi $K_D = 0,25$.

Nhận dạng: Dùng phương pháp hóa miễn dịch thích hợp.

Nội độc tố vi khuẩn: Không được quá 150 EU/ μg polysaccharid.

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Bán thành phẩm cuối cùng được điều chế từ một hoặc nhiều loại đơn Vi polysaccharid tinh chế. Nếu sử dụng bán

thành phẩm này để đóng lọ đa liều thì phải cho thêm chất bảo quản kháng khuẩn và được hòa tan trước trong một dung môi thích hợp, sao cho sản phẩm cuối cùng chứa 25 µg polysaccharid/1 liều tiêm cho người. Hàm lượng chất bảo quản trong bán thành phẩm cuối cùng không được gây biến tính Vi polysaccharid và các thành phần khác của vắc xin. Vắc xin bán thành phẩm được pha chế (trong điều kiện vô trùng) trong dung dịch không có chứa chất gây sốt và được lọc vô trùng qua màng lọc.

Bán thành phẩm cuối cùng chỉ được phép pha chế thành thành phẩm khi đạt các yêu cầu sau:

Vô trùng

Đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

Thimerosal

Đạt theo Phụ lục 15.29

Hàm lượng Vi polysaccharid

Dùng thử nghiệm hóa miễn dịch định lượng đã được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận để xác định hàm lượng Vi polysaccharid của mẫu bán thành phẩm cuối cùng (Phụ lục 15.37).

Nhận dạng

Dùng thử nghiệm huyết thanh học, dựa vào sự kết tủa miễn dịch.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Các thử nghiệm dưới đây phải được tiến hành với mỗi loạt vắc xin thành phẩm.

Cảm quan

Vắc xin dạng lỏng, trong suốt, không màu, không có vật thể lạ mắt thường có thể nhìn thấy và không có những dấu hiệu bất thường khác như: Lông nút, nắp, hàn không đạt yêu cầu...

Nhận dạng

Thử nghiệm nhận dạng được tiến hành bằng phương pháp hóa miễn dịch thích hợp.

Xác định hàm lượng Vi polysaccharid

Lấy mẫu ngẫu nhiên, ít nhất 3 lọ (hoặc ống), xác định hàm lượng Vi polysaccharid bằng thử nghiệm hóa miễn dịch định lượng, so sánh với mẫu chuẩn polysaccharid (Phụ lục 15.37).

Vô trùng

Phải đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

Chất gây sốt

Mỗi loạt vắc xin thành phẩm phải được kiểm tra chất gây sốt bằng cách tiêm vắc xin thương hàn Vi polysaccharid có nồng độ 25 ng/ml vào tĩnh mạch tai thỏ (1 ml/kg thể trọng thỏ) (Phụ lục 15.12).

An toàn không đặc hiệu

Loạt vắc xin thành phẩm thương hàn Vi polysaccharid đạt yêu cầu về an toàn không đặc hiệu khi tất cả các chuột thử nghiệm đều sống sót và không bị giảm cân trong ít nhất 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Chất bảo quản

Thimerosal: Đạt theo Phụ lục 15.29

Phenol (Nếu được sử dụng để điều chế vắc xin): Không được nhiều hơn 2,5 g/l (Phụ lục 15.28).

Độ ẩm tồn dư (Nếu vắc xin ở dạng đông khô)

Phương pháp áp dụng phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận. Thông thường sử dụng phương pháp Karl Fischer. Lấy mẫu ngẫu nhiên để kiểm định theo tỷ lệ 1/1000 lọ, tuy nhiên tối đa là 10 lọ và cũng không được ít hơn 5 lọ (Phụ lục 15.35).

Tiêu chuẩn: Độ ẩm tồn dư trung bình giữa các lọ không được lớn hơn 2,5 %, không được lọ nào có độ ẩm tồn dư 3 % hoặc lớn hơn.

pH

7,0 ± 0,5 (Phụ lục 15.33).

Nghiên cứu tính ổn định

Nghiên cứu tính ổn định phải được tiến hành để xác định hạn dùng của vắc xin thương hàn Vi polysaccharid. Nghiên cứu này có thể dựa trên các thử nghiệm xác định hàm lượng O-Acetyl và kích thước phân tử của ít nhất là 3 loạt vắc xin thành phẩm (các loạt vắc xin thành phẩm này phải được sản xuất từ những bán thành phẩm Vi polysaccharid tinh chế riêng biệt). Các loạt vắc xin dùng trong thời gian nghiên cứu phải được bảo quản ở điều kiện như ghi trên hướng dẫn dành cho người sử dụng.

Tiêu chuẩn: Kích thước phân tử của mỗi loạt vắc xin thành phẩm phải đạt ít nhất 50 % Vi polysaccharid từ cột được rửa giải trước khi K_D đạt tới 0,25. Thử nghiệm về tính ổn định phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận.

Đóng gói

Việc đóng gói, dán nhãn phải tuân thủ theo GMP.

Bảo quản, hạn dùng

Các tuyên bố về hạn dùng và nhiệt độ bảo quản sẽ phải dựa trên những nghiên cứu về tính ổn định của vắc xin và phải được cơ quan kiểm định quốc gia phê duyệt.

Nhiệt độ bảo quản: 2 °C đến 8 °C.

Hạn dùng

Hạn dùng không được quá 3 năm kể từ ngày đóng ống thành phẩm.

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 THỦY ĐẬU

Vaccinum varicella vivum

Vắc xin thủy đậu là chế phẩm đông khô được sản xuất từ chủng virus thủy đậu sống giảm độc lực, phát triển trên tế bào lưỡng bội người. Vắc xin được hồi chính với dung