

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

dịch hồi chính ngay trước khi dùng tạo thành dung dịch trong, cho màu khi có mặt chỉ thị pH.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu dưới đây.

Sản xuất

Sản xuất vắc xin dựa trên hệ thống chủng giống gốc virus và hệ thống ngân hàng tế bào. Phương pháp sản xuất phải cho thấy hiệu suất vắc xin thủy đậu sống giảm độc lực ổn định về tính sinh miễn dịch và tính an toàn cho người sử dụng. Virus trong vắc xin thành phẩm sẽ không được cấy chuyển trên tế bào vượt quá đời thứ 38 tính từ đời virus gốc.

Chủng sản xuất

Chủng virus thủy đậu sẽ được nhận dạng là chủng Oka thông qua hồ sơ bao gồm thông tin về nguồn gốc của chủng, phương pháp giảm độc lực và đời cấy chuyển đã được đánh giá trên lâm sàng là đã giảm độc và có hiệu quả. Các lô chủng phải được sản xuất trên cùng một loại tế bào sử dụng để sản xuất vắc xin thành phẩm. Chủng được bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 20 °C (-20 °C) nếu ở dạng đông khô hoặc dưới âm 60 °C (-60 °C) nếu không ở dạng đông khô.

Chỉ có những lô chủng virus đạt những yêu cầu sau đây mới được sử dụng để sản xuất.

Nhận dạng: Lô chủng giống gốc và chủng sản xuất được nhận dạng là virus thủy đậu bởi phương pháp trung hòa huyết thanh trên tế bào, sử dụng kháng thể đặc hiệu.

Nồng độ virus: Nồng độ virus của lô chủng sản xuất và lô chủng giống gốc được xác định theo quy định để đảm bảo tính ổn định của sản xuất.

Tác nhân ngoại lai: Lô chủng sản xuất phải tuân thủ những yêu cầu đối với chủng vắc xin virus sống.

Lựa chọn tế bào cho sản xuất

Dòng tế bào dùng cho sản xuất vắc xin thủy đậu phải dựa trên hệ thống ngân hàng tế bào. Tế bào có nguồn gốc từ người được bảo quản ở âm 70 °C (-70 °C) hoặc trong nitrogen lỏng. Cơ quan kiểm định quốc gia phải phê chuẩn ngân hàng tế bào gốc và số lượng tối đa số đời cấy chuyển đã được thiết lập.

Môi trường nuôi cấy tế bào

Huyết thanh sử dụng cho nuôi cấy tế bào phải không nhiễm vi khuẩn, nấm, *Mycoplasma* và các virus, tác nhân ngoại lai khác.

Penicilin và các beta-lactam khác không được sử dụng trong bất cứ giai đoạn sản xuất nào.

Các kháng sinh khác có thể được sử dụng ở các giai đoạn sản xuất nhưng phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp nhận.

Các mẻ gặt đơn

Trước khi cấy lô chủng virus, tế bào phải được kiểm tra xem có bị hủy hoại do các tác nhân gây nhiễm không. Nếu có bằng chứng của bất kỳ một tác nhân ngoại lai nào thì toàn bộ nhóm tế bào liên quan sẽ không được sử dụng để sản xuất vắc xin.

Sau khi cấy virus, tế bào được ủ ở điều kiện nhiệt độ thích hợp. Nếu huyết thanh động vật được sử dụng trong môi trường phát triển hoặc môi trường duy trì để nuôi cấy tế bào thì huyết thanh phải được loại bỏ khỏi tế bào trước hoặc sau khi cấy virus nhưng phải trước khi tiến hành thu hoạch virus. Tế bào nuôi cấy phải được rửa và môi trường phát triển phải được thay thế bằng môi trường duy trì không có huyết thanh.

Các tế bào nuôi đã được gây nhiễm từ mẻ gặt đơn sẽ được làm sạch và hỗn lại. Hỗn dịch tế bào được xử lý bằng sóng siêu âm hoặc là các phương pháp thích hợp khác.

Mẻ hỗn virus

Mẻ hỗn virus được điều chế từ một hoặc vài mẻ gặt đơn đạt tiêu chuẩn. Mẻ hỗn virus phải được kiểm tra tính vô trùng. Những mẫu chưa kiểm tra được ngay phải bảo quản ở âm 60 °C (-60 °C).

Mẻ hỗn virus được tinh sạch bằng phương pháp thích hợp và loại được tối đa các mảnh vỡ tế bào.

Số lượng virus sống phải được xác định bằng phương pháp chuẩn độ trên tế bào có đối chiếu với mẫu chuẩn virus thủy đậu sống.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Bán thành phẩm được sản xuất bằng cách trộn các mẻ hỗn dịch virus. Chỉ những chất bảo quản, tá chất hoặc dung dịch được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn mới được cho vào bán thành phẩm. Những chất này phải đảm bảo không làm ảnh hưởng đến tính an toàn và hiệu lực của sản phẩm.

Vô trùng

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

Nếu vắc xin có chứa chất bảo quản, phải tiến hành phương pháp thích hợp để ngăn chặn các yếu tố gây nhiễu đối với thử nghiệm vô trùng.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan

Mỗi loạt 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 về cảm quan như: không có vật lạ trong lọ vắc xin; nắp hay nút phải chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn. Nếu ống hay lọ vắc xin nào không đạt yêu cầu cần được loại bỏ.

Nhận dạng

Kiểm tra nhận dạng được thực hiện trên ít nhất 1 lọ thành phẩm từ mỗi lô thành phẩm cuối cùng bằng phương pháp thích hợp do cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Nhận dạng kháng nguyên trong vắc xin được xác định bằng phương pháp trung hòa huyết thanh trên tế bào với kháng thể đặc hiệu, hoặc sử dụng huyết thanh miễn dịch đặc hiệu.

Công hiệu

Sử dụng phương pháp đã được cơ quan quản lý phê duyệt để xác định hàm lượng virus.

Tiêu chuẩn: Theo tiêu chuẩn đã được cơ quan quản lý phê duyệt.

Đối với tính ổn định nhiệt cũng cần được cơ quan kiểm định quốc gia xem xét phê duyệt như một yếu tố trong việc thiết lập tính ổn định của quá trình sản xuất.

An toàn chung

Đạt yêu cầu về an toàn chung (Phụ lục 15.11).

Vô trùng

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

Độ ẩm

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 15.35).

Độ ẩm tồn dư trong mẫu phải được xác định bằng phương pháp thích hợp do cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Hàm lượng protein huyết thanh động vật tồn dư

Nếu huyết thanh được sử dụng trong nuôi cấy tế bào thì hàm lượng albumin huyết thanh tồn dư phải ít hơn 50 ng/liều đơn ở người.

Bảo quản

Vắc xin thủy đậu nên đóng liều đơn ở dạng đông khô và được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.

Nếu sử dụng trong điều kiện bảo quản khác thì phải được thẩm định đầy đủ và được phê chuẩn bởi cơ quan kiểm định quốc gia.

Hạn dùng

Hạn sử dụng phải được phê chuẩn của cơ quan kiểm định quốc gia.

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng theo yêu cầu của các quy định hiện hành và cần có các thông tin như sau:

Chủng virus sử dụng sản xuất vắc xin;

Tên tế bào dùng sản xuất vắc xin;

Nồng độ thấp nhất của virus;

Thời gian hoàn nguyên và thời gian sử dụng vắc xin sau khi hoàn nguyên;

Khuyến cáo với phụ nữ có thai;

Tránh tiếp xúc với chất tẩy rửa.

VẮC XIN UỐN VÁN HẤP PHỤ

Vaccinum tetani adsorbatum

Vắc xin uốn ván hấp phụ được điều chế từ độc tố uốn ván đã được xử lý bằng formaldehyd và nhiệt độ để mất tính độc mà vẫn còn tính sinh miễn dịch, chứa ít nhất 1000 Lf/mg nitrogen protein và hấp phụ với một tá chất thích hợp như nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd trong dung dịch muối đẳng trương. Có thể cho thêm chất bảo quản thích hợp.

Sản xuất

Sản xuất vắc xin phải dựa trên hệ thống chủng. Chủng *Clostridium tetani* được nuôi cấy trên môi trường thích

hợp. Kết thúc giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những mẻ nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông. Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và nhiệt độ rồi tinh chế theo phương pháp thích hợp.

Số lượng Lf trong vắc xin bán thành phẩm không vượt quá 25 Lf trong một liều đơn cho người nếu sử dụng nhiều hơn một liều cho miễn dịch cơ bản.

Hàm lượng chất bảo quản phải không gây hại đến giải độc tố và không gây ra những phản ứng ở người.

Giải độc tố tinh chế bán thành phẩm

Chủng sản xuất *Clostridium tetani* phải có độc tính cao, biết rõ về nguồn gốc và lịch sử chủng. Thu độc tố uốn ván trong môi trường nuôi cấy ở điều kiện vô trùng. Xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông để giám sát tính ổn định trong sản xuất. Giải độc tố uốn ván được tinh chế để loại bỏ các thành phần có thể gây các phản ứng phụ cho người. Độc tố sau khi tinh chế sẽ được bất hoạt bằng formaldehyd theo phương pháp thích hợp sao cho không ảnh hưởng đến khả năng sinh miễn dịch của giải độc tố và không bị hồi độc. Tuy nhiên, có thể lựa chọn quy trình tinh chế sau khi giải độc.

Chỉ có những giải độc tố tinh chế bán thành phẩm đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được sử dụng để pha vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô trùng

Tiến hành kiểm tra tính vô trùng của giải độc tố uốn ván tinh chế bán thành phẩm với 10 ml mẫu cho mỗi môi trường kiểm tra (Phụ lục 15.7).

An toàn đặc hiệu

Tiem dưới da 1 ml giải độc tố tinh chế có chứa 500 Lf/ml/con cho 5 chuột lang khỏe mạnh (250 - 350) g/con chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích gì trước đó. Theo dõi và kiểm tra trọng lượng chuột, các dấu hiệu liệt do uốn ván hàng tuần trong vòng 3 tuần. Những chuột chết phải được mô kiểm tra. Giải độc tố uốn ván tinh chế đạt yêu cầu an toàn đặc hiệu khi không có chuột lang nào có dấu hiệu liệt do uốn ván hay bất kỳ triệu chứng uốn ván nào trong 3 tuần theo dõi và có ít nhất 80 % chuột sống sót trong giai đoạn thử nghiệm.

Tính hồi độc

Giải độc tố uốn ván tinh chế phải được kiểm tra để đảm bảo không bị hồi độc. Sử dụng dung dịch đệm giống như dung dịch pha vắc xin bán thành phẩm cuối cùng nhưng không có chất hấp phụ để pha mẫu giải độc tố uốn ván tinh chế bán thành phẩm thành huyền dịch chứa 12,5 Lf/ml. Chia thành 2 mẫu thử, trong đó một mẫu ủ ở (5 ± 3) °C trong 6 tuần và mẫu kia ủ ở 37 °C trong 6 tuần. Tiem dưới da 5 ml/con, mỗi mẫu tiem cho 5 chuột lang khỏe mạnh cân nặng mỗi chuột từ 250 g đến 350 g chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích gì trước đó. Thử nghiệm đạt yêu