

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

cầu khi cả 2 nhóm chuột đều khoẻ mạnh, không có chuột lang nào có dấu hiệu uốn ván trong 3 tuần theo dõi.

Độ tinh sạch của kháng nguyên uốn ván

Giải độc tố uốn ván tinh chế phải được kiểm tra độ tinh sạch của kháng nguyên bằng cách kiểm tra hàm lượng kháng nguyên (Lf/mg nitrogen protein). Giá trị Lf được kiểm tra bằng cách so sánh với mẫu chuẩn đã được hiệu chuẩn bởi giải độc tố uốn ván mẫu chuẩn quốc tế dành cho thử nghiệm lên bông hoặc mẫu chuẩn quốc gia tương đương. Giải độc tố uốn ván tinh chế đạt yêu cầu khi chứa không được ít hơn 1000 Lf/mg nitrogen protein.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được pha chế từ giải độc tố uốn ván tinh chế, cho thêm nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd với hàm lượng thích hợp. Có thể cho thêm chất kháng khuẩn thích hợp. Chỉ những vắc xin bán thành phẩm cuối cùng đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được phép tiếp tục sản xuất thành vắc xin thành phẩm.

Chất bảo quản

Xác định hàm lượng chất bảo quản bằng phương pháp hóa học thích hợp. Hàm lượng chất kháng khuẩn trong vắc xin bán thành phẩm phải đạt ít nhất là 85 % và không được quá 115 % so với lượng dự kiến cho vào (Phụ lục 15.29).

Vô trùng

Tiến hành kiểm tra tính vô trùng của vắc xin bán thành phẩm cuối cùng với 10 ml mẫu cho mỗi môi trường kiểm tra. Không nhiễm vi khuẩn và nấm (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng

Thực hiện ít nhất trên một lọ vắc xin đã được dán nhãn. Nhận dạng giải độc tố uốn ván bằng thử nghiệm lên bông như mô tả trong Phụ lục 15.19 hoặc bằng phương pháp miễn dịch kháng nguyên, kháng thể phù hợp.

Vô trùng

Vắc xin không nhiễm vi khuẩn và nấm (Phụ lục 15.7).

Công hiệu

Thực hiện theo Phụ lục 15.23.

Tiêu chuẩn: Công hiệu của vắc xin uốn ván đơn hấp phụ được coi là đạt yêu cầu khi không thấp hơn 40 IU đối với một liều đơn dùng cho người. Đối với các thử nghiệm sử dụng 3 độ pha loãng, giới hạn khoảng tin cậy 95 %, công hiệu phải nằm trong khoảng 50 % đến 200 % của công hiệu tiêu chuẩn.

An toàn chung

Phụ lục 15.11.

Chất bảo quản

Hàm lượng chất bảo quản thimerosal không ít hơn 85 % hoặc không nhiều hơn 115 % lượng ghi trên nhãn (Phụ lục 15.29).

Hàm lượng chất hấp phụ

Không quá 1,25 mg nhôm trong một liều đơn vắc xin cho người (Phụ lục 15.27).

VẮC XIN VIÊM GAN A BẤT HOẠT, HẤP PHỤ

pH

6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

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, không có dấu hiệu bất thường về cảm quan như: Vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn. Trong quá trình kiểm tra, nếu ống hay lọ nào thấy không đạt yêu cầu cần được loại bỏ.

Bảo quản, hạn dùng

Vắc xin được bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Khi bảo quản ở điều kiện quy định vắc xin có thể giữ được công hiệu 3 năm kể từ ngày chuẩn độ công hiệu.

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 VIÊM GAN A BẤT HOẠT, HẤP PHỤ

Vaccinum hepatitis A inactivatum adsorbatum

Vắc xin viêm gan A bất hoạt, hấp phụ là chế phẩm chứa một chủng virus viêm gan A nuôi cấy trên tế bào, được bất hoạt bằng một phương pháp đã được phê chuẩn và thường được hấp phụ với nhôm hydroxyd hoặc nhôm phosphat.

Sản xuất

Chủng virus

Phải đạt các tiêu chuẩn sau:

Có đầy đủ hồ sơ, thông tin về nguồn gốc virus.

Đạt được các tiêu chuẩn đặt ra cho virus sử dụng để sản xuất vắc xin bất hoạt.

Đã qua thử nghiệm lâm sàng cho thấy có thể tạo ra vắc xin an toàn và hiệu quả.

Chủng sản xuất được sản xuất dựa trên hệ thống chủng giống gốc đã được phê chuẩn bởi cơ quan có thẩm quyền. Chủng sản xuất được bảo quản ở dưới âm 60 °C (-60 °C).

Tế bào sản xuất

Gồm tế bào lưỡng bội người, dòng tế bào thường trực hoặc tế bào tiên phát đã được mô tả đặc tính đầy đủ và được phê chuẩn bởi cơ quan kiểm định quốc gia.

Môi trường nuôi cấy tế bào sử dụng trong sản xuất

Phải được thẩm định để đảm bảo năng suất và hiệu quả trong sản xuất vắc xin. Tất cả các thành phần bổ sung vào môi trường nuôi cấy đều phải đảm bảo vô trùng và an toàn (huyết thanh bê, trypsin tách tế bào, chất chỉ thị pH, kháng sinh...).

Quá trình sản xuất

Chủng virus viêm gan A thường được nuôi cấy trên dòng tế bào lưỡng bội người (tế bào MRC5 hoặc KMB17) hoặc dòng tế bào thường trực khác, sử dụng môi trường nuôi cấy thích hợp. Hỗn dịch virus được gặt, hột lại, tinh sạch,

bất hoạt, bổ sung chất bảo quản, lọc, pha loãng, bổ sung tá chất và đóng ống theo quy trình đã được phê duyệt. Trong quá trình sản xuất, tất cả các khâu đều được kiểm tra từ nguyên liệu nguồn như: Chủng virus, tế bào sử dụng cho sản xuất, môi trường nuôi cấy, huyết thanh bê, trypsin tách tế bào, chất chỉ thị pH, kháng sinh, hóa chất bất hoạt, chất bảo quản...

Trong trường hợp sử dụng tế bào thận khi tiên phát để sản xuất thì các thử nghiệm đặc hiệu để kiểm soát virus ở khi phải được thực hiện bao gồm thử nghiệm: SIV, SV 40, virus B và lao.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm

Vô trùng

Đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

Chất bảo quản

Nếu quy trình sản xuất có sử dụng các chất bảo quản, thì việc xác định hàm lượng các chất này được thực hiện bằng một phương pháp hóa học hoặc hóa lý. Hàm lượng các chất bảo quản này phải nằm trong giới hạn 85 % đến 115 % lượng ghi trên nhãn.

Nhôm

Nếu sử dụng nhôm hydroxyd hoặc nhôm hydrat phosphat làm chất hấp phụ, thì hàm lượng tối đa cho phép là 1,25 mg Al^{+3} trong một liều đơn dùng cho người (Phụ lục 15.27).

Formaldehyd tồn dư

Không quá 0,2 g/L (Phụ lục 15.25).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Trường hợp các thử nghiệm kiểm tra hàm lượng formaldehyd tồn dư (nếu có sử dụng), hàm lượng chất bảo quản (nếu có) hay các thử nghiệm kiểm tra trên động vật mà đã kiểm tra trên vắc xin bán thành phẩm và cho kết quả đạt yêu cầu thì những thử nghiệm này có thể không cần kiểm tra trên vắc xin thành phẩm.

Nhận dạng

Vắc xin phải chứa kháng nguyên virus viêm gan A được nhận dạng bằng phương pháp ELISA, sử dụng kháng thể đặc hiệu hoặc bằng thử nghiệm *in vivo*.

Cảm quan

Khi lắc vắc xin viêm gan A bất hoạt, hỗn dịch có màu trắng đục.

Vô trùng

Đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

pH

Phải nằm trong giới hạn do nhà sản xuất đăng ký đã được phê duyệt (Phụ lục 15.33).

An toàn chung

Vắc xin viêm gan A bất hoạt hấp phụ phải đạt an toàn trên chuột nhắt và chuột lang. Chuột phải khỏe mạnh, tăng cân sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Chất gây sốt

Vắc xin viêm gan A bất hoạt hấp phụ phải đạt yêu cầu về

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

Nội độc tố vi khuẩn

Đạt tiêu chuẩn theo nhà sản xuất đăng ký đã được phê duyệt (Phụ lục 13.2).

Công hiệu

Công hiệu vắc xin viêm gan A bất hoạt, hấp phụ được tiến hành song song với vắc xin mẫu chuẩn. Có thể được xác định theo phương pháp gây miễn dịch trên chuột để xác định hiệu giá kháng thể thu được (công hiệu *in vivo*) hoặc phương pháp sử dụng kháng thể đặc hiệu thực hiện trong phòng thí nghiệm để định lượng trực tiếp hàm lượng kháng nguyên có trong vắc xin (công hiệu *in vitro*).

Công hiệu in vivo:

Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng (giống chuột tùy thuộc vào quy trình của các nhà sản xuất) khỏe mạnh và từ cùng một đàn, khoảng 5 tuần tuổi, tốt nhất là cùng giới. Xác định công hiệu tương quan: Vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử được pha loãng thành ít nhất 3 độ pha. Dung dịch để pha loãng là nước muối sinh lý (dung dịch natri clorid 0,9 %) có chứa loại tá chất được sử dụng trong mẫu kiểm tra. Tiêm màng bụng 1 mL/chuột, mỗi độ pha tiêm miễn dịch ít nhất 10 chuột. Tất cả các chuột sau gây miễn dịch được nuôi từ 28 đến 32 ngày trong điều kiện như nhau. Tiến hành gây mê, lấy máu tim chuột. Các mẫu máu được ly tâm ở 3000 r/min trong 10 min ở 4 °C đến 8 °C, tách huyết thanh và cất riêng rẽ mẫu máu của từng chuột ở -20 °C.

Xác định hiệu giá kháng thể đặc hiệu kháng virus viêm gan A bằng phương pháp (ELISA) dùng kit thương phẩm có chất lượng tốt. Kết quả được tính theo chương trình Probit Analysis.

Thử nghiệm có giá trị khi:

ED₅₀ của vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử đều nằm trong khoảng giữa liều tiêm lớn nhất và liều tiêm nhỏ nhất. Phân tích thống kê cho thấy đạt yêu cầu về tuyến tính và song song.

Giới hạn tin cậy của công hiệu tương quan nằm trong khoảng 33 % đến 300 %.

Tiêu chuẩn công hiệu *in vivo*: Công hiệu tương quan ($p = 95 \%$) không nhỏ hơn 1 so với mẫu chuẩn.

Hàm lượng nhôm

Nếu sử dụng hydroxyd nhôm hoặc nhôm hydrat phosphat là chất hấp phụ thì hàm lượng tối đa cho phép là 1,25 mg Al^{+3} trong một liều đơn dùng cho người (Phụ lục 15.27).

Formaldehyd tồn dư

Không được quá 0,2 g/L (Phụ lục 15.25).

Chất bảo quản

Nếu quy trình sản xuất có sử dụng các chất bảo quản thì việc xác định hàm lượng các chất này được thực hiện bằng một phương pháp hóa học hoặc hóa lý. Hàm lượng các chất bảo quản này phải từ 85 % đến 115 % lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng protein

Được xác định theo phương pháp phù hợp, thường là dùng phương pháp Lowry. Hàm lượng protein phải nằm trong giới hạn cho phép (Phụ lục 15.34).

Bảo quản, hạn dùng

Vắc xin được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh sáng và tránh làm vắc xin đông băng.

Các tuyên bố về hạn dùng, 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 trên nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu quy định hiện hành.

Cách dùng, liều dùng

Theo hướng dẫn sử dụng đã được phê duyệt.

VẮC XIN VIÊM GAN A BẤT HOẠT, VIROSOM

Vaccinum hepatitis A inactivatum virosomale

Vắc xin viêm gan A bất hoạt, virosom là hỗn dịch của một chủng virus viêm gan A phù hợp nuôi cấy trên tế bào và được bất hoạt bằng một phương pháp đã được phê chuẩn rồi phối trộn với các virosom theo một tỷ lệ phù hợp, các phospholipid được sử dụng như là tá chất.

Các virosom là vỏ của virus cúm phù hợp với từng sản phẩm.

Sản xuất

Phương pháp sản xuất cần được thẩm định để chứng tỏ rằng sản phẩm tạo ra nếu đem kiểm tra sẽ đáp ứng tất cả các yêu cầu về độc tính bất thường của huyết thanh miễn dịch và vắc xin dùng cho người (Phụ lục 15.11).

Quy trình sản xuất gồm 3 giai đoạn.

Giai đoạn 1: Sản xuất vắc xin viêm gan A (bất hoạt).

Quy trình sản xuất vắc xin viêm gan A bất hoạt được mô tả trong chuyên luận Vắc xin viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ) và phải tuân thủ tất cả các yêu cầu về sản xuất và kiểm định giống như phần Sản xuất vắc xin viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ).

Giai đoạn 2: Sản xuất các virosom.

Virosom là phần vỏ của một loại virus cúm đã được phê duyệt dùng cho sản phẩm đặc hiệu, có chứa kháng nguyên bề mặt hemagglutinin. Quy trình sản xuất các virosom này cũng giống như quy trình sản xuất vắc xin cúm bất hoạt (dạng split), gồm các bước: Chủng virus cúm phù hợp được gây nhiễm vào trứng, ủ rồi thu dịch niệu; tinh sạch virus; bất hoạt; phá vỡ và thu phần vỏ virus chứa các glycoprotein của virus cúm (trong đó có kháng nguyên hemagglutinin). Sau đó được bổ sung thêm các phospholipid phù hợp như lecithin, cephalin... rồi loại bỏ các chất sử dụng trong quá trình tinh sạch, tẩy rửa bằng sắc ký hấp phụ hoặc một phương pháp phù hợp để thu được các virosom.

Quy trình sản xuất các virosom phải tuân thủ tất cả các yêu cầu về sản xuất và kiểm định giống như phần sản xuất Vắc xin cúm bất hoạt.

Giai đoạn 3: Phối trộn.

Vắc xin viêm gan A sau khi bất hoạt được trộn với các virosom theo một tỷ lệ phù hợp đã được thẩm định tạo ra bán thành phẩm cuối cùng.

Trong quá trình sản xuất, tất cả các khâu đều được kiểm tra từ nguyên liệu nguồn như: Chủng virus, tế bào gốc, tế bào sử dụng cho sản xuất, môi trường nuôi cấy, huyết thanh bê, trypsin tách tế bào, chất chỉ thị pH, kháng sinh, hóa chất bất hoạt, chất bảo quản... Vắc xin phải đạt những yêu cầu đã ghi trong chuyên luận vắc xin dùng cho người và các yêu cầu dưới đây.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Hàm lượng protein

Được xác định theo phương pháp phù hợp, thường dùng phương pháp Lowry (Phụ lục 15.34). Hàm lượng protein phải nằm trong giới hạn được phê duyệt.

Hàm lượng phospholipid

Được xác định theo phương pháp phù hợp, thường dùng phương pháp hóa miễn dịch hoặc phương pháp hóa lý. Hàm lượng phospholipid phải nằm trong giới hạn được quy định cho từng sản phẩm.

Nhận dạng và định lượng hàm lượng hemagglutinin

Được xác định theo phương pháp phù hợp, thường là dùng phương pháp khuếch tán miễn dịch đơn (SRD). Hàm lượng hemagglutinin phải nằm trong giới hạn được phê duyệt. Thử nghiệm định lượng hàm lượng hemagglutinin được dùng như thử nghiệm nhận dạng.

Nhận dạng và định lượng hàm lượng kháng nguyên HAV

Được xác định theo phương pháp hóa miễn dịch phù hợp, thường là dùng phương pháp ELISA. Hàm lượng HAV phải nằm trong giới hạn cho phép. Thử nghiệm định lượng hàm lượng HAV được dùng như thử nghiệm nhận dạng.

Tỷ lệ giữa hàm lượng kháng nguyên HAV và hemagglutinin

Phải nằm trong giới hạn cho phép.

Hàm lượng ovalbumin

Được xác định theo phương pháp hóa miễn dịch phù hợp, thường dùng phương pháp ELISA. Hàm lượng ovalbumin không quá 1 µg/liều đơn dùng cho người.

Hàm lượng BSA tồn dư

Được xác định theo phương pháp hóa miễn dịch phù hợp, thường là dùng phương pháp ELISA. Hàm lượng BSA nằm trong giới hạn nhà sản xuất đăng ký nhưng không được quá 50 ng/ml.

Vô trùng

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