

VẮC XIN VIÊM GAN B TÁI TỔ HỢP

Vaccinum hepatitis B recombinatum

Vắc xin viêm gan B tái tổ hợp (rDNA) được sản xuất từ kháng nguyên bề mặt (HBsAg) - là một protein của virus viêm gan B. Kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B được sản xuất theo công nghệ tái tổ hợp ADN và thường được hấp phụ với nhôm hydroxyd hoặc nhôm phosphat hydrat.

Sản xuất

Vắc xin viêm gan B tái tổ hợp được điều chế bằng cách sử dụng HBsAg tổng hợp ở tế bào nấm men (*Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, *Hansenula polymorpha*), tế bào trứng chuột đất vàng (CHO - Chinese hamster ovary) hoặc các dòng tế bào thích hợp khác đã được chuyển nạp (transformation) với một plasmid có chứa gen mã hóa HBsAg. HBsAg được thu từ tế bào bằng cách làm ly giải hoặc phá vỡ tế bào nấm men và được tinh chế nhờ các kỹ thuật sinh hóa lý.

Vắc xin tái tổ hợp có thể chứa sản phẩm của gen S (protein loại nhỏ) hoặc phối hợp sản phẩm của gen S và tiền S₂ (protein loại trung bình) hoặc phối hợp cả sản phẩm của gen S, tiền S₂ và tiền S₁ (protein loại lớn).

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm

Hàm lượng protein

Protein trong mẫu thử được định lượng theo phương pháp Lowry (Phụ lục 15.34).

Nhận dạng và hàm lượng HBsAg

Xác định hàm lượng HBsAg bằng các thử nghiệm hóa miễn dịch phù hợp, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (IA), thử nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (ELISA), điểm miễn dịch hoặc khuếch tán miễn dịch đơn. Vắc xin mẫu thử được so sánh với vắc xin mẫu chuẩn.

Độ tinh khiết của kháng nguyên

Được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) hoặc các phương pháp khác phù hợp như SDS - PAGE (Phụ lục 15.39).

Tiêu chuẩn: Không nhỏ hơn 95 % so với hàm lượng protein toàn phần.

Lipid

Không lớn hơn 100 µg/100 µg protein (Phụ lục 15.40).

Cesi (Cs)

Không lớn hơn 5 µg/20 µg protein (Phụ lục 15.41).

Tween 20

Không lớn hơn 50 µg/100 µg protein (Phụ lục 15.42).

Polysaccharid

Không lớn hơn 10 µg/100 µg protein (Phụ lục 15.38).

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Thimerosal

Không được lớn hơn 0,012 % (Phụ lục 15.29).

Vô trùng

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

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan

Sau khi lắc, vắc xin viêm gan B có màu trắng, hơi đục.

pH

5,4 đến 7,4 (Phụ lục 15.33).

Protein toàn phần

Xác định bằng phương pháp Lowry. Hàm lượng protein toàn phần có trong vắc xin không được quá 40 µg/ml (Phụ lục 15.34).

Nhôm

Hàm lượng nhôm trong vắc xin tối đa không được quá 1,25 mg/liều đơn dùng cho người (Phụ lục 15.27).

Formaldehyd

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 15.25).

Thimerosal

Không được quá 0,012 % (Phụ lục 15.29).

Vô trùng

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

An toàn chung

Vắc xin viêm gan B phải đảm bảo an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt trắng. Chuột phải khỏe mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Chất gây sốt

Vắc xin viêm gan B phải an toàn về mặt chất gây sốt khi tiêm cho thỏ. Tổng nhiệt độ chênh lệch 3 thỏ không được quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Công hiệu

Công hiệu vắc xin viêm gan tái tổ hợp được tiến hành song song giữa vắc xin mẫu thử với vắc xin mẫu chuẩn; có thể được xác định bằng phương pháp thực nghiệm trên động vật thí nghiệm (công hiệu *in vivo*) để xác định hiệu giá kháng thể, hoặc phương pháp miễn dịch trên phòng thí nghiệm (công hiệu *in vitro*) để xác định hàm lượng kháng nguyên HBsAg có trong vắc xin.

Thử nghiệm công hiệu *in vivo*

Động vật thí nghiệm:

Chuột nhắt trắng giống BALB/C hoặc ICR hoặc một giống chuột phù hợp khác, khỏe mạnh và từ cùng một đàn, khoảng 5 tuần đến 6 tuần tuổi, tốt nhất là chuột cùng một giới.

Xác định công hiệu tương quan:

Vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử được pha loãng bậc 2 thành 5 độ pha. Dung dịch để pha vắc xin là nước muối sinh lý có chứa nhôm hydroxyd (hàm lượng nhôm hydroxyd không quá 500 µg/ml). Tiêm màng bụng 1 ml mỗi độ pha loãng vắc xin cho mỗi chuột. Mỗi độ pha loãng vắc xin tiêm ít nhất 15 chuột. Tất cả các chuột sau gây miễn dịch được nuôi từ 28 ngày đến 32 ngày trong điều kiện như nhau. Tiến hành gây mê và lấy máu tim chuột.

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI VẮC XIN PHỐI HỢP VIÊM GAN A (BẤT HOẠT, HẤP PHỤ) VÀ VẮC XIN VIÊM GAN B (TÁI TỔ HỢP, HẤP PHỤ)

Các mẫu máu được ly tâm 3000 r/min ở nhiệt độ 4 °C đến 8 °C, tách huyết thanh. Các mẫu huyết thanh được bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Xác định hiệu giá kháng thể kháng HBsAg bằng thử nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (ELISA) trên bộ sinh phẩm chẩn đoán thương mại có sẵn. Kết quả được tính theo phần mềm thống kê chuyên dụng.

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 nhỏ nhất.

Phân tích thống kê cho thấy đạt yêu cầu về tuyến tính và song song.

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

Tiêu chuẩn công hiệu trên thực nghiệm:

Công hiệu tương quan (P = 95 %) không nhỏ hơn 1.

Thử nghiệm công hiệu in vitro

Vắc xin thử nghiệm được pha loãng song song với vắc xin mẫu chuẩn bằng PBS 0,1 M (pH 7,2 - 7,4) với các độ pha loãng bậc 2 phù hợp. Tiến hành thử nghiệm bằng kỹ thuật ELISA, trên bộ sinh phẩm chẩn đoán thương mại có sẵn. Dùng kháng thể đơn dòng kháng HBsAg để xác định lượng kháng nguyên HBsAg trong vắc xin mẫu thử, so sánh với vắc xin mẫu chuẩn.

Kết quả được tính theo phần mềm Excel, Paraleline hoặc phần mềm chuyên dụng khác.

Tiêu chuẩn:

Theo nhà sản xuất đăng ký.

Đóng gói

Vắc xin viêm gan B được đóng trong lọ thủy tinh trung tính, mỗi lọ chứa 20 µg/1 ml; hoặc 10 µg/1 ml; hoặc 5 µg/1 ml tùy theo từng nhà sản xuất.

Tính ổn định

Nghiên cứu tính ổn định của vắc xin phải được tiến hành trên ít nhất 3 loạt liên tiếp (được sản xuất từ 3 loạt bán thành phẩm khác nhau) khi được bảo quản theo thời gian ở điều kiện như ghi trên nhãn của sản phẩm.

Bảo quản, hạn dùng

Vắc xin viêm gan B phải được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tuyệt đối không được làm vắc xin đông băng.

Trong điều kiện bảo quản như trên, vắc xin viêm gan B tái tổ hợp có hạn dùng là 36 tháng.

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.

Đường tiêm, liều tiêm

Đường dùng: Tiêm bắp vào vùng cơ delta (đối với trẻ sơ sinh, tiêm bắp đùi là tốt hơn).

Liều dùng, lịch tiêm: Theo hướng dẫn cụ thể của nhà sản xuất.

Tiêm nhắc lại sau 5 năm đối với tất cả các lứa tuổi.

VẮC XIN PHỐI HỢP VIÊM GAN A (BẤT HOẠT, HẤP PHỤ) VÀ VẮC XIN VIÊM GAN B (TÁI TỔ HỢP, HẤP PHỤ)

Vaccinum hepatitis A inactivatum et hepatitis B (ADNr) adsorbatum

Vắc xin phối hợp viêm gan A bất hoạt, hấp phụ và vắc xin viêm gan B tái tổ hợp, hấp phụ là một hỗn dịch chứa một chủng virus viêm gan A phù hợp (nuôi cấy trên tế bào, được bất hoạt bằng một phương pháp đã được phê chuẩn) và vắc xin viêm gan B tái tổ hợp (được sản xuất từ kháng nguyên bề mặt HBsAg là một protein của virus viêm gan B. Kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B được sản xuất theo công nghệ tái tổ hợp ADN) và thường được hấp phụ với nhôm hydroxyd hoặc nhôm phosphat hydrat.

Sản xuất

Sản xuất độc lập từng loại vắc xin sau đó phối trộn lại để tạo vắc xin phối hợp viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ) và vắc xin viêm gan B (tái tổ hợp, hấp phụ).

Quy trình sản xuất của hai thành phần vắc xin này được mô tả trong phần vắc xin viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ) và vắc xin viêm gan B (tái tổ hợp, hấp phụ). Vắc xin phối hợp viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ) và vắc xin viêm gan B (tái tổ hợp, hấp phụ) phải tuân thủ tất cả các yêu cầu về sản xuất và kiểm định cho từng loại vắc xin.

Vắc xin mẫu chuẩn: Là mẫu phải được chứng minh bằng các kết quả nghiên cứu trên động vật và người trưởng thành khỏe mạnh; sau một liệu trình tiêm miễn dịch đầu tiên, ít nhất 95 % tạo được đáp miễn dịch bảo vệ, tương ứng với hàm lượng kháng thể trong máu Anti HAV phải đạt ít nhất 20 mIU/ml và Anti HBs phải đạt ít nhất 10 mIU/ml.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

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 phương pháp hóa học hoặc hóa lý. Hàm lượng các chất bảo quản phải nằm trong giới hạn từ 85 % đến 115 % lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng 2-phenoxyethanol

Kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lỏng. Hàm lượng 2-phenoxyethanol trong vắc xin phải nằm trong giới hạn cho phép.

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), hàm lượng kháng nguyên HBsAg tự do, hàm lượng kháng nguyên HAV tự do (không hấp phụ) 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.