

Hệ số tương quan (R^2) đường tuyến tính của chuẩn tính trên phần mềm Excel phải lớn hơn 95 %.

Hàm lượng kháng nguyên HAV trong mẫu thử được tính từ ít nhất 3 độ pha liên tiếp trong số các độ pha loãng dùng trong thử nghiệm.

Quy trình thử nghiệm định lượng và nhận dạng thành phần HBsAg trong vắc xin phối hợp viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ) và vắc xin viêm gan B (tái tổ hợp, hấp phụ) theo phương pháp ELISA gián tiếp.

Nguyên lý:

Hàm lượng HBsAg trong vắc xin cần kiểm tra được định lượng theo phương pháp ELISA gián tiếp. Vắc xin được ủ với 1 lượng kháng thể đa dòng người. Sau đó lượng kháng thể thừa được xác định bằng ủ với HBsAg chuẩn và được phát hiện bằng kháng thể kháng IgG người gắn peroxylase.

Tiến hành:

Mẫu vắc xin được pha loãng trong dung dịch PBS có chứa 0,1 % BSA và 0,1 % (tt/tt) Tween 20, tiếp tục được trộn với kháng thể đa dòng kháng HBsAg và ủ qua đêm ở nhiệt độ phòng. Sau đó ly tâm, dịch nổi được chuyển vào phiến gắn HBsAg ủ qua đêm ở 2 °C đến 8 °C cùng với HBsAg chuẩn tái tổ hợp đã được pha loãng trong dung dịch đệm carbonat 0,05 M (pH 9,6)(*) để xác định lượng kháng thể thừa. Lượng kháng thể thừa được xác định bằng cách sử dụng một kháng thể kháng kháng thể người gắn peroxylase. Ủ 37 °C trong 1 h. Rửa, rồi thêm dung dịch chất hiện màu (TMB). Cuối cùng nhỏ dung dịch dừng phản ứng (dung dịch acid sulfuric 1 N).

Đo OD ở bước sóng 450/620 nm. Mật độ màu tỷ lệ nghịch với hàm lượng HBsAg có trong mẫu.

(*) Pha đệm carbonat 0,05 M (pH 9,6):

Dung dịch 1: Hòa tan 2,1 g natri hydrocarbonat (TT) trong 500 ml nước.

Dung dịch 2: Hòa tan 2,65 g natri carbonat (TT) trong 500 ml nước.

Bảo quản các dung dịch trên trong lọ kín, ở 25 °C hoặc trong tủ lạnh, hạn dùng 3 tháng.

Trước khi dùng, trộn đều 70 ml dung dịch 1 và 30 ml dung dịch 2, được dung dịch đệm carbonat 0,05 M (pH 9,6). Bảo quản hỗn hợp dung dịch đã pha trong lọ kín, ở nhiệt độ phòng, hạn dùng 1 tháng.

Tính kết quả:

Kết quả được tính theo phần mềm Paraleline hoặc Excel. Hệ số tương quan (R^2) đường tuyến tính của chuẩn tính trên phần mềm Excel phải lớn hơn 95 %.

Hàm lượng kháng nguyên HBsAg trong mẫu thử được tính từ ít nhất 3 độ pha liên tiếp trong số các độ pha loãng dùng trong thử nghiệm.

Tiêu chuẩn:

Hàm lượng kháng nguyên HAV phải không dưới 60 % hàm lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng kháng nguyên HBsAg phải từ 21 - 37 µg HBsAg/ml.

VẮC XIN VIÊM NÃO NHẬT BẢN BẤT HOẠT SẢN XUẤT TRÊN NÃO CHUỘT

Vaccinum encephalitis japonicae inactivatum ex cerebris murinis

Vắc xin viêm não Nhật Bản là một chế phẩm vô khuẩn được điều chế từ chủng virus viêm não Nhật Bản (chủng Nakayama hoặc Beijing) sau khi đã được gây nhiễm vào não chuột nhắt trắng.

Quy trình sản xuất bao gồm các bước tinh chế bằng protamin sulfat, amoni sulfat, siêu ly tâm trong dung dịch saccharose. Virus viêm não Nhật Bản sau tinh chế phải có độ tinh khiết cao và duy trì được bản chất kháng nguyên để có thể tạo ra đáp ứng miễn dịch tối ưu. Kháng nguyên tinh khiết được bất hoạt bởi formaldehyd và được bảo quản bằng thimerosal.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm

Vô trùng

Bán thành phẩm viêm não Nhật Bản phải đạt yêu cầu về vô trùng (Phụ lục 15.7).

Hiệu giá virus

Hiệu giá virus viêm não Nhật Bản được xác định bằng kỹ thuật ELISA. Hiệu giá được sử dụng như một chỉ số theo dõi tính ổn định của quy trình sản xuất.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan

Mỗi lọ vắc xin viêm não Nhật Bản thành phẩm phải được kiểm tra bằng mắt thường để đảm bảo các lọ vắc xin không có dấu hiệu bất thường về cảm quan như: Vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút đã được đậy chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn.

Vắc xin viêm não Nhật Bản ở dạng lỏng là dung dịch trong suốt, không màu.

Nhận dạng

Tiêm cho chuột lang hoặc chuột nhắt trắng, vắc xin viêm não Nhật Bản phải tạo được kháng thể trung hòa có khả năng trung hòa được virus đặc hiệu.

pH

Từ 6,8 đến 7,4 (Phụ lục 15.33).

Hàm lượng protein

Xác định bằng phương pháp Lowry. Hàm lượng protein không được quá 80 µg/ml (Phụ lục 15.34).

Chất bảo quản

Hàm lượng thimerosal không quá 0,12 mg/ml (Phụ lục 15.29).

Formaldehyd

Không quá 0,1 mg/ml (Phụ lục 15.25).

Chất gây sốt

Vắc xin viêm não Nhật Bản phải an toàn về chất gây sốt. Khi tiêm cho thỏ, tổng số nhiệt độ tăng cho 3 thỏ không được quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Vô trùng

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

An toàn chung

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

An toàn đặc hiệu

Vắc xin viêm não Nhật Bản phải đảm bảo an toàn khi tiêm thử nghiệm trên chuột nhắt trắng. Chuột phải khỏe mạnh và tăng trọng bình thường sau thời gian theo dõi 14 ngày. Tính an toàn đặc hiệu của vắc xin viêm não Nhật Bản được xác định bằng cách kiểm tra sự có mặt của virus còn sống sót sau quá trình bất hoạt.

Động vật: Sử dụng ít nhất 10 chuột nhắt trắng có khối lượng khoảng 12 g đến 14 g. Lựa chọn những chuột khỏe mạnh, không có biểu hiện bệnh lý và tăng trọng bình thường trong thời gian cách ly ít nhất là 3 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm. Chuột được chăm sóc và theo dõi trong điều kiện tiêu chuẩn.

Cách tiến hành: Mẫu vắc xin thử nghiệm không pha loãng đem tiêm vào não chuột với liều 0,03 ml cho mỗi chuột.

Theo dõi và đọc kết quả: Toàn bộ chuột thử nghiệm phải theo dõi và cân khối lượng hàng ngày trước khi tiêm và sau khi tiêm. Thời gian theo dõi chuột là 14 ngày kể từ sau ngày tiêm. Trong suốt thời gian theo dõi, chuột thử nghiệm phải khỏe mạnh, tăng trọng và không được có các triệu chứng bất thường. Nếu trong trường hợp có một chuột thử nghiệm bị liệt hoặc chết thì phải tiến hành thử nghiệm lại lần thứ hai với số vắc xin đem thử và số chuột thí nghiệm gấp 2. Nếu trong thử nghiệm lần thứ hai có một chuột bị liệt hoặc chết thì lô vắc xin thử nghiệm đó phải hủy bỏ vì không đạt yêu cầu về tính an toàn đặc hiệu.

Công hiệu

Tiến hành kiểm tra song song với vắc xin chuẩn.

Vắc xin kiểm tra và vắc xin chuẩn được pha loãng ở các độ pha 1/16, 1/32, 1/64 trong dung dịch PBS 0,75 M, pH 7,4 có chứa 0,02 % gelatin. Mỗi độ pha, tiêm 2 liều, mỗi liều 0,5 ml, đường phúc mạc, cách nhau 7 ngày cho 16 chuột nhắt trắng. Toàn bộ chuột được nuôi và theo dõi trong 2 tuần. Sau đó tiến hành lấy máu trong điều kiện vô khuẩn và để riêng máu của từng chuột, để ở 4 °C qua đêm. Tách huyết thanh và hợp huyết thanh của toàn bộ chuột (mỗi chuột 0,1 ml) của cùng một độ pha. Pha loãng huyết thanh 1/10 và bất hoạt bổ thể ở 56 °C trong 30 min. Bảo quản huyết thanh chuột đã pha loãng và bất hoạt ở -20 °C. Tiến hành chuẩn độ hiệu giá kháng thể trung hòa trên tế bào BHK21.

Kết quả được tính toán theo công thức tính giảm 50 % đám hoại tử. Hiệu giá kháng thể trung hòa của vắc xin kiểm tra không được thấp hơn vắc xin chuẩn.

Đóng gói, bảo quản, hạn dùng

Đóng ở trong lọ thủy tinh trung tính: 5,5 ml/lọ và 1 ml/lọ. Bảo quản ở 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng; tuyệt đối không được làm đông băng.

Trong điều kiện bảo quản ở trên, vắc xin viêm não Nhật Bản có hạn dùng là 24 tháng kể từ ngày sản xuất.

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.

Liều tiêm, đường tiêm, lịch tiêm

Tiêm dưới da, vị trí tiêm: vào vùng cơ delta.

Dưới 36 tháng tuổi tiêm 0,5 ml/1 liều.

Trên 36 tháng tuổi tiêm 1,0 ml/1 liều.

Lịch tiêm: 2 liều cách nhau 1 tuần đến 2 tuần.

Tiêm nhắc lại: Sau 1 năm và sau đó cứ 3 năm tiêm nhắc lại một lần.