https://nhathuocngocanh.com/

Cân từng con trước khi tiêm và cân ít nhất 1 lần vào cuối giai đoạn theo dõi. Chuột phải được quan sát kỹ 2 h đầu sau tiêm và hàng ngày trong suốt 7 ngày để phát hiện dấu hiệu lâm sàng ốm do nhiễm độc.

Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu toàn bộ chuột thí nghiệm khỏe mạnh, tăng trọng và không có biểu hiện bệnh lý hoặc nhiễm độc.

Nếu có nhiều hơn 1 chuột chết thì thử nghiệm không đạt yêu cầu (nếu thử nghiệm đó đã được xác định là có giá trị).

Nếu có 1 chuột chết hoặc chỉ ra dấu hiệu ốm do nhiễm độc trong lần thử đầu tiên (thử nghiệm có giá trị), cần làm lại thử nghiệm với số lượng chuột gấp đôi và lượng mẫu thử gấp đôi. Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu trong lần thử nghiệm thứ 2 không có chuột nào chết hoặc chỉ ra dấu hiệu ốm do nhiễm độc.

Nếu thử nghiệm lần đầu không có giá trị thì thử nghiệm lặp lại với số lượng mẫu và số lượng động vật thí nghiệm bằng lần đầu.

Trên chuột nhắt

Mỗi thử nghiệm dùng 5 chuột nhắt trắng, cân nặng mỗi chuột từ 17 g đến 22 g, chưa dùng thí nghiệm nào trước đó, khỏe mạnh trong thời gian theo dõi trước tiêm 3 ngày; số lượng chuột có thể thay đổi phù hợp theo yêu cầu đặc biệt của từng loại vắc xin, sinh phẩm.

Tiêm ổ bụng 1 liều tiêm cho người nhưng không quá 1 ml, trừ một số vắc xin sinh phẩm đặc biệt sẽ theo chuyên luận riêng. Liều cho người được trình bày trên nhãn sản phẩm.

Cân từng con trước khi tiêm và cân ít nhất 1 lần vào cuối giai đoạn theo dõi. Chuột phải được quan sát kỹ 2 h đầu sau tiêm và hàng ngày trong suốt 7 ngày để phát hiện dấu hiệu lâm sàng ốm do nhiễm độc.

Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu toàn bộ chuột thí nghiệm khỏe mạnh, tăng trọng bình thường và không có biểu hiện bệnh lý hoặc nhiễm độc.

Nếu có nhiều hơn 1 chuột chết thì thử nghiệm không đạt yêu cầu (nếu thử nghiệm là có giá trị).

Nếu có 1 chuột chết hoặc chỉ ra dấu hiệu ốm do nhiễm độc trong lần thử đầu tiên (thử nghiệm có giá trị) cần làm lại thử nghiệm với số lượng chuột gấp đôi và lượng mẫu thử gấp đôi. Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu trong lần thử nghiệm thứ 2 không có chuột nào chết hoặc chỉ ra dấu hiệu ốm do nhiễm độc.

Nếu thử nghiệm lần đầu không có giá trị thì thử nghiệm lặp lại với số lượng mẫu và số lượng động vật thí nghiệm bằng lần đầu.

15.12 XÁC ĐỊNH CHẤT GÂY SỐT TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Thử nghiệm chất gây sốt là phương pháp sinh học dùng để đánh giá tính chất gây sốt của vắc xin, sinh phẩm dựa trên sự tăng thân nhiệt của thỏ trước và sau khi tiêm vào tĩnh mạch dung dịch mẫu thử.

Lựa chọn động vật thí nghiệm

Thỏ khỏe mạnh, trưởng thành, đực hoặc cái (nhưng không được mang thai), cân nặng không ít hơn 1,5 kg, được nuôi dưỡng bằng thức ăn không chứa chất kháng sinh và không bị tụt cân trong suốt 1 tuần trước thử nghiệm. Trong thời gian 3 ngày trước khi thí nghiệm, không sử dụng thỏ này cho những thí nghiệm tương tự khác. Cũng có thể sử dụng những thỏ trước đó 3 tuần đã làm thử nghiệm chất gây sốt nhưng kết quả lần thử trước là âm tính.

Phòng thí nghiệm

Thử nghiệm được tiến hành trong phòng yên tĩnh, tránh mọi tiếng động và ánh sáng làm ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm và nhiệt độ phòng không chênh lệch 3 °C so với nơi ở cũ.

Thỏ được nuôi riêng trong phòng yên tĩnh có nhiệt độ 20 °C đến 25 °C, cho ăn thức ăn tổng hợp không có chất kháng sinh. Trước ngày tiêm, để thỏ nhịn ăn qua đêm (nhưng được uống nước) cho đến khi thí nghiệm kết thúc. Không cho uống nước trong thời gian đang làm thí nghiệm.

Thiết bị, dụng cụ

Nhiệt kế: Để đo nhiệt độ của thỏ có thể dùng nhiệt kế hoặc thiết bị điện có độ chính xác 0,1 °C. Khi đo nhiệt độ, nhiệt kế phải đặt sâu trong trực tràng thỏ ít nhất 5 cm, phải để tối thiểu 5 min. Nếu dùng thiết bị điện, phải đặt yên trong trực tràng ít nhất 90 min trước khi tiêm và giữ nguyên vị trí đó suốt thời gian thí nghiệm.

Dụng cụ thủy tinh, bơm tiêm, kim tiêm: Tất cả phải được rửa sạch bằng nước pha tiêm (WFI) và sấy khô 250 °C trong 30 min hoặc 200 °C trong 60 min, nếu dùng đồ nhựa phải không chứa chất gây sốt và phải vô trùng.

Lồng thỏ chuyên dụng:

Trước khi bắt đầu, đặt thỏ trong lồng chuyên dụng trong tư thế thỏa mái không ít hơn 1 h và duy trì ở đó trong suốt thời gian làm thí nghiệm.

Thử nghiệm thăm dò (preliminary test)

1 ngày đến 3 ngày trước khi tiến hành tiêm vắc xin, sinh phẩm cần kiểm tra sơ bộ về tính nhạy cảm cho các thỏ thí nghiệm bằng cách tiêm vào tĩnh mạch 10 ml dung dịch nước muối sinh lý 0,9 % không chứa chất gây sốt đã được làm ấm lên khoảng 38,5 °C cho mỗi kilogam cân nặng thỏ (10 ml/kg). Ghi nhiệt độ trước tiêm và tiếp tục trong vòng 3 h sau khi tiêm dung dịch nước muối sinh lý. Nếu thỏ nào có nhiệt độ dao động so với nhiệt độ ban đầu > 0,6 °C sẽ bị loại, không dùng đưa vào thử nghiệm chính.

Thử nghiệm chính (main test): Đối với mẫu vắc xin, sinh phẩm.

Thỏ thí nghiệm là thỏ đạt các tiêu chuẩn trên, được để trong lồng chuyên dụng ít nhất 60 min để ổn định. Sau đó tiến hành đo nhiệt độ thỏ 2 lần mỗi lần cách nhau 30 min (nếu đo tay) hoặc theo chương trình cài đặt (nếu đo bằng thiết bị). Nhiệt độ ban đầu của thỏ là giá trị trung bình của các lần đo này. Tiêu chuẩn đưa vào thí nghiệm là những thỏ có nhiệt độ chênh lệch giữa các lần đo không quá

https://nhathuocngocanh.com/

0,2 °C và nhiệt độ ban đầu nằm trong khoảng 38 °C đến 39,8 °C. Mỗi mẫu thử được tiêm cho một nhóm thỏ 3 con, nhiệt độ chênh lệch trong nhóm không quá 1 °C.

Dung dịch dùng để tiêm thỏ là vắc xin, sinh phẩm nếu ở dạng lỏng hoặc được hoàn nguyên bằng dung dịch nước hồi chỉnh đi kèm nếu ở dạng đông khô. Trừ một số vắc xin, sinh phẩm đặc biệt sẽ theo chuyên luận riêng (có thể được pha loãng bằng dung dịch nước muối sinh lý không chứa chất gây sốt).

Tiêm chậm dung dịch vào tĩnh mạch vành tai của mỗi thỏ trong khoảng thời gian không kéo dài quá 4 min. Thể tích được tiêm cho mỗi thỏ tương ứng với 1 ml/kg cân nặng. Nên làm ấm dung dịch đến 38,5 °C trước khi tiêm. Đo nhiệt độ thỏ ở những khoảng thời gian tùy thuộc vào thiết bị sử dụng (nếu đo tay cứ 1 h đo 1 lần; trường hợp dùng thiết bị, nhiệt độ được đo tự động theo chương trình cài đặt) trong khoảng thời gian 3 h sau khi tiêm. Nhiệt độ tối đa là nhiệt độ cao nhất đo được trong khoảng thời gian này.

Đánh giá kết quả

Đáp ứng của mỗi thỏ là hiệu số của nhiệt độ tối đa sau khi tiêm mẫu thử và nhiệt độ ban đầu.

Đáp ứng của thỏ bằng 0 nếu nhiệt độ tối đa sau khi tiêm bằng hoặc thấp hơn nhiệt độ ban đầu.

Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu về tiêu chuẩn chất gây sốt nếu nhiệt độ chênh lệch của mỗi thỏ ≤ 0,6 °C và tổng nhiệt độ chênh lệch của 3 thỏ ≤ 1,3 °C. Nếu > 2,4 °C coi như không đạt yêu cầu.

Nếu tổng nhiệt độ chênh lệch của 3 thỏ nằm trong khoảng > 1,3 °C đến 2,4 °C thì thử nghiệm cần phải tiến hành thêm trên 3 thỏ khác. Mẫu thử đạt yêu cầu về tiêu chuẩn chất gây sốt khi tổng nhiệt độ chênh lệch (cộng dồn) của cả 6 thỏ ≤ 3 °C. Nếu > 4,1 °C coi như không đạt yêu cầu.

Nếu tổng nhiệt độ chênh lệch (cộng dồn) của 6 thỏ nằm trong khoảng > 3 °C đến 4,1 °C thì cần phải làm thêm lần cuối trên 3 thỏ khác. Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu về tiêu chuẩn chất gây sốt khi tổng nhiệt độ chênh lệch của 9 thỏ (cộng dồn) phải ≤ 4,9 °C. Nếu > 4,9 °C coi như không đạt yêu cầu và phải hủy vắc xin hay sinh phẩm thử nghiệm.

15.14 PHƯƠNG PHÁP LẤY MẪU VÀ LƯU MẪU

Trừ khi có quy định khác, tiêu chuẩn này quy định phương pháp lấy mẫu cho các loại vắc xin, sinh phẩm sau đây:

Các loại vắc xin làm từ vi khuẩn hoặc virus, dùng để phòng bệnh cho người.

Các dung dịch dùng để hồi chỉnh các sinh phẩm dạng đông khô.

Các sinh phẩm điều trị: SAT, SAD,....

PHƯƠNG PHÁP LẤY MẪU

Nguyên tắc

Phải lấy mẫu ở công đoạn sản xuất, với số lượng đủ tính đại diện.

Các mẫu phải lấy trong điều kiện vô khuẩn bằng những dụng cụ đã vô khuẩn.

Cách lấy mẫu

Mẫu được lấy trong các giai đoạn sau:

Lấy mẫu bán thành phẩm cuối cùng

Trước khi lấy mẫu phải lắc kỹ chai hoặc bình chứa bán thành phẩm cuối cùng. Lấy ít nhất 10 ml cấy vào trong 2 loại môi trường thử.

Lấy mẫu trong quá trình đóng ống

Để kiểm tra tính vô khuẩn trong quá trình đóng ống phải lấy mẫu ít nhất tại thời điểm đầu, giữa và cuối quá trình đóng ống. Tổng số mẫu lấy tùy thuộc số lượng thành phẩm (xem Bảng 15.14).

Đối với quá trình đóng ống mà sau đó sinh phẩm phải đông khô thì sau giai đoạn đông khô cũng phải lấy mẫu để kiểm tra vô khuẩn.

Lấy mẫu thành phẩm

Mẫu thành phẩm cần kiểm tra phải đảm bảo đại diện cho cả loạt thành phẩm. Mẫu lấy kiểm tra phải bao gồm cả mẫu của giai đoạn đầu, giai đoạn giữa và cuối của quá trình đóng ống. Nếu loạt bán thành phẩm cùng trong bình chứa (tank), nhưng được đóng làm nhiều lần, thì mẫu lấy của mỗi lần (gọi là một loạt đóng ống) phải đại diện cho toàn bộ quá trình đóng ống của lần đó và được kiểm tra riêng về mặt vô trùng. Số lượng mẫu cần lấy để kiểm tra do cơ quan Kiểm định Quốc gia quy định.

Số lượng mẫu lấy

Mỗi giai đoạn phải lấy số mẫu phù hợp để kiểm định.

Công thức lấy mẫu để kiểm tra theo quy định của Tổ chức Y tế Thế giới là $0,4\sqrt{N}$; trong đó N là số lượng ống, lọ của loạt thành phẩm đó.

Đối với loạt thành phẩm có ít hơn 100 ống thì phải lấy 10 % số ống để kiểm tra.

Cần lưu ý: Riêng với thử nghiệm vô trùng, số lượng mẫu lấy ở mỗi giai đoạn phải đủ cho ít nhất 3 lần thử nghiệm phòng trường hợp phải nhắc lại thử nghiệm.

Lưu mẫu

Mỗi loạt sinh phẩm thành phẩm đều phải giữ mẫu lưu. Mẫu lưu này được giữ cho đến khi vắc xin và sinh phẩm hết hạn sử dụng. Phải ghi nhãn cẩn thận số loạt và tên sinh phẩm. Các cơ sở sản xuất cần phải lưu một lượng mẫu đủ để có thể tiến hành kiểm tra vô khuẩn lại khi cần thiết.

Số lần kiểm định

Thông thường, số lượng mẫu lấy phải bảo đảm cho các thử nghiệm kiểm định của 3 cấp như sau: Kiểm định sản xuất (kiểm định cấp I); Kiểm định địa phương (kiểm định cấp II) và Kiểm định Quốc gia (kiểm định cấp III).

Số lượng mẫu lấy để kiểm tra vô khuẩn của sản phẩm tối thiểu phải đủ cho kiểm định sản xuất, kiểm định địa phương và lưu mẫu. Nếu Kiểm định Quốc gia cần kiểm tra lại thử nghiệm vô khuẩn thì số lượng mẫu thử bằng số lượng mẫu mà kiểm định địa phương đã làm.