

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 chính 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 $\leq 0,6$ °C và tổng nhiệt độ chênh lệch của 3 thỏ $\leq 1,3$ °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 $\leq 4,9$ °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 chính 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.

PL-470

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.

Bảng 15.14 - Số lượng mẫu được lấy cho thử nghiệm vô khuẩn vắc xin, sinh phẩm

Thể tích được đóng trong 1 ống hoặc lọ vắc xin, sinh phẩm

Số lượng thành phẩm /loạt	0,5 ml						1 ml đến 1,5 ml						≥ 2 ml					
	Tổng số		SX		KDDP		Tổng số		SX		KDDP		Tổng số		SX		KDDP	
	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô
Từ 501 đến 1000	16	16	2	8	2	8	6	12	3	6	3	6	12	12	6	6	6	6
Từ 1001 đến 2000	24	24	3	12	3	12	8	16	4	8	4	8	18	18	9	9	9	9
Từ 2001 đến 3000	24	24	3	12	3	12	10	20	4	10	5	10	22	22	11	11	11	11
Từ 3001 đến 4000	24	24	3	12	3	12	12	24	6	12	6	12	26	26	13	13	13	13
Từ 4001 đến 5000	32	32	4	16	4	16	14	28	7	14	7	14	28	28	14	14	14	14
Từ 5001 đến 6000	32	32	4	16	4	16	16	32	8	16	8	16	32	32	16	16	16	16
Từ 6001 đến 7000	32	32	4	16	4	16	16	32	8	16	8	16	34	34	17	17	17	17
Từ 7001 đến 8000	40	40	5	20	5	20	18	36	9	18	9	18	36	36	18	18	18	18
Từ 8001 đến 9000	40	40	5	20	5	20	20	40	10	20	10	20	38	38	19	19	19	19
Từ 9001 đến 10.000	40	40	5	20	5	20	20	40	10	20	10	20	40	40	20	20	20	20
> 10.000	40	40	5	20	5	20	20	40	10	20	10	20	40	40	20	20	20	20

Ghi chú:

M: Số mẫu được lấy để kiểm định. Ô: Số lượng lọ vắc xin, sinh phẩm lấy để kiểm tra vô khuẩn.

SX: Kiểm định sản xuất (cấp I).

KDDP: Kiểm định địa phương (cấp II).

Trường hợp cần hủy một loạt sinh phẩm do không đạt tiêu chuẩn lý học (đục, tủa) thì toàn bộ số ống đó phải chuyển qua kiểm định địa phương để tìm nguyên nhân.

Số lượng thành phẩm cần lấy để kiểm tra vô khuẩn sẽ tùy thuộc vào tổng số ống của mỗi loạt và thể tích sinh phẩm có trong 1 ống hoặc lọ (Bảng 15.14).

Xử lý mẫu

Mẫu kiểm định phải bảo quản theo những quy định phù hợp cho từng loại sinh phẩm và phải được tiến hành kiểm định ngay. Nếu chưa kiểm định được, nhất thiết phải bảo quản ở nhiệt độ quy định.

Các mẫu kiểm định phải có thông tin như sau:

- Tên sản phẩm;
- Ngày sản xuất;
- Số loạt;
- Số lượng sản phẩm;
- Yêu cầu kiểm định;
- Số lượng mẫu gửi kiểm định;
- Ngày lấy mẫu;
- Đơn vị gửi mẫu;
- Hạn dùng;
- Dạng đóng gói;
- Nhà sản xuất;
- Điều kiện bảo quản;
- Số đăng ký.

PHƯƠNG PHÁP LƯU MẪU

Tại cơ quan kiểm định quốc gia chỉ lưu mẫu sinh phẩm ở dạng thành phẩm cuối cùng, mẫu lưu phải được bảo quản ít nhất đến khi hết hạn sử dụng.

Mẫu lưu do phòng kiểm định cấp 2 giữ tại các cơ sở sản xuất. Các mẫu kiểm định cấp 2 được lấy cùng thời điểm với mẫu gửi cho cơ quan Kiểm định Quốc gia. Mẫu gửi Kiểm định Quốc gia cần bảo quản đúng nhiệt độ quy định trong suốt quá trình vận chuyển (trong trường hợp đơn vị sản xuất ở cách xa cơ quan kiểm định).

Các mẫu lưu của từng sinh phẩm phải được đóng gói cẩn thận, gắn xi (hoặc có băng bảo đảm) ngoài bao bì phải ghi rõ các thông tin sau:

- Tên sinh phẩm;
- Số loạt;
- Số lượng lưu mẫu;
- Ngày lưu mẫu;
- Nhiệt độ bảo quản trong thời gian lưu mẫu.

Thời gian lưu mẫu tùy thuộc vào từng loại sinh phẩm và hạn dùng của sinh phẩm đó.

15.15 XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ HUYẾT THANH KHÁNG ĐỘC TỔ BẠCH HẦU

Hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu được xác định bằng cách so sánh khả năng trung hòa một lượng cố định độc tố bạch hầu của kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm và kháng độc tố bạch hầu chuẩn thông qua thử nghiệm trung hòa độc tố trên chuột lang hoặc trong da thỏ.

Thử nghiệm trung hòa độc tố bạch hầu trên chuột lang

Xác định liều độc tố bạch hầu thử nghiệm (L⁺)

L⁺ là lượng độc tố bạch hầu nhỏ nhất còn lại sau khi trung hòa với 1 đơn vị quốc tế (IU) của kháng độc tố bạch hầu chuẩn đủ để gây chết 1 chuột lang có khối lượng đã xác định trong thời gian từ 4 ngày đến 6 ngày.