

**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 /loại	0,5 ml																			
	Tổng số		SX				KDDP				1 ml đến 1,5 ml						≥ 2 ml			
	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<sup>+</sup>)**

L<sup>+</sup> 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.

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu chuẩn với nước muối sinh lý (0,85 %) để có dung dịch kháng độc tố chứa 3,0 IU/ml. Pha độc tố bạch hầu với dung dịch Jensen pepton để có dung dịch độc tố chứa 3 Lf/ml đến 4 Lf/ml.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn chứa 3,0 IU/ml, một thể tích thay đổi dung dịch độc tố bạch hầu (ví dụ 0,6 ml; 0,7 ml; 0,8 ml; 0,9 ml; 1,0 ml;... tùy theo độc tính của độc tố bạch hầu) và nước muối sinh lý để vừa đủ 6,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống, để yên ở 37 °C trong 60 min, tránh ánh sáng. Tiêm 2,0 ml vào dưới da đùi cho mỗi chuột lang cân nặng từ 250 g đến 300 g, dùng 2 chuột cho mỗi độ pha.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết trong thời gian từ 4 ngày đến 6 ngày.

*Cách xác định:* Hỗn dịch nào có lượng độc tố bạch hầu nhỏ nhất sau khi tiêm gây chết 100 % chuột trong vòng 4 ngày đến 6 ngày sẽ có chứa lượng độc tố 3 L<sup>+</sup>/6ml hay 1 L<sup>+</sup>/2ml (một liều tiêm/1 chuột lang).

#### **Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu**

Là xác định số đơn vị quốc tế kháng độc tố bạch hầu có trong 1,0 ml của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm.

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch chứa 3,0 IU/ml.

Pha độc tố bạch hầu với dung dịch Jensen pepton để có dung dịch độc tố chứa 3L<sup>+</sup> trong một thể tích đã xác định.

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm với nước muối sinh lý để có các độ pha 1/300; 1/400; 1/500; 1/600; 1/700; vv... tùy theo hiệu giá có thể có được của kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm.

*Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống:* Một lượng dung dịch độc tố bạch hầu chứa 3L<sup>+</sup>; 3,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm ở mỗi độ pha loãng và nước muối sinh lý để vừa đủ 6,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

*Pha mẫu chứng:* Cho vào 3 ống nghiệm lần lượt: Một lượng dung dịch độc tố bạch hầu có chứa 3 L<sup>+</sup>, một trong 3 lượng 0,9 ml; 1,0 ml; 1,1 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn chứa 3,0 IU/ml và sau đó một lượng nước muối sinh lý để vừa đủ 6,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống, để yên ở 37 °C trong 60 min, tránh ánh sáng.

Tiêm 2,0 ml vào dưới da đùi cho mỗi chuột lang, dùng 2 chuột cho mỗi độ pha.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết trong thời gian từ 4 ngày đến 6 ngày.

#### **Cách tính hiệu giá**

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi mẫu chứng có chứa 0,9 ml và 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn gây chết 100 % chuột trong vòng 4 ngày đến 6 ngày và mẫu chứng có chứa 1,1 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn không được gây chết chuột trong thời gian theo dõi.

Dung dịch nào có chứa lượng kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm lớn nhất không bảo vệ được chuột trong thời gian 4

ngày đến 6 ngày giống như mẫu chứng có chứa 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn sẽ có chứa 1,0 IU/ml.

Hiệu giá của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu được tính như sau:

$$\text{Hiệu giá (IU/ml)} = 1,0 \times N$$

Trong đó:

N là số lần pha loãng kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm; 1,0 là số IU có trong dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn dùng để trung hòa 1L<sup>+</sup> trong thử nghiệm.

#### **Thử nghiệm trung hòa độc tố bạch hầu trong da thỏ**

##### **Xác định liều độc tố bạch hầu thử nghiệm (L<sup>+</sup>/30)**

L<sup>+</sup>/30 là lượng độc tố bạch hầu nhỏ nhất còn lại sau khi trung hòa với 1/30 IU của kháng độc tố bạch hầu chuẩn đủ để gây phản ứng Shick trên da thỏ trong 48 h.

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch kháng độc tố chứa 1,0 IU/ml.

Pha độc tố bạch hầu với dung dịch Jensen pepton để có dung dịch độc tố chứa khoảng 1,0 Lf/ml.

*Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống:* 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn chứa 1,0 IU/ml, một thể tích thay đổi dung dịch độc tố bạch hầu

(ví dụ 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml; 0,6 ml; ... tùy theo độc tính của độc tố bạch hầu) và nước muối sinh lý để vừa đủ 3,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống nghiệm và để yên ở 37 °C trong 60 min, tránh ánh sáng.

Tiêm 0,1 ml trong da thỏ, loại có cân nặng từ 2,5 kg/con đến 3,0 kg/con.

Theo dõi thỏ thử nghiệm và đo đường kính quầng đỏ trong vòng 48 h.

*Cách xác định:* Độ pha nào của độc tố bạch hầu tạo phản ứng Shick với đường kính từ 12 mm đến 15 mm sẽ có chứa 30 L<sup>+</sup>/30 trong 3,0 ml hay L<sup>+</sup>/30 trong 0,1 ml.

##### **Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu**

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch chứa 1,0 IU/ml.

Pha độc tố bạch hầu với dung dịch Jensen pepton để có dung dịch độc tố chứa 30 L<sup>+</sup>/30 trong một thể tích đã xác định.

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm với nước muối sinh lý để có các độ pha 1/300; 1/400; 1/500; 1/600; 1/700;... tùy theo hiệu giá có thể có được của kháng

độc tố bạch hầu thử nghiệm.

*Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống:* Một lượng dung dịch độc tố bạch hầu chứa 30 L<sup>+</sup>/30 đã xác định; 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch

hầu thử nghiệm ở mỗi độ pha loãng và nước muối sinh lý để vừa đủ 3,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

*Pha mẫu chứng:* Cho vào 3 ống nghiệm lần lượt: Một lượng dung dịch độc tố bạch hầu chứa 30 L<sup>+</sup>/30, một trong 3 lượng 0,9 ml; 1,0 ml; 1,1 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn chứa 1,0 IU/ml và sau đó một lượng nước muối sinh lý để vừa đủ 3,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống, để yên ở 37 °C trong 60 min, tránh ánh sáng. Tiêm 0,1 ml trong da thỏ, loại có cân nặng từ 2,50 kg/con đến 3,0 kg/con, dùng 3 thỏ cho mỗi thử nghiệm. Theo dõi thỏ thử nghiệm và đo đường kính quầng đỏ trong vòng 48 h.

#### Cách tính hiệu giá

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi mẫu chứng chứa 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn tạo phản ứng Shick với đường kính từ 12 mm đến 15 mm. Hỗn dịch nào chứa lượng kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm lớn nhất tạo phản ứng Shick với đường kính 12 mm đến 15 mm tương đương với mẫu chứng chứa 1,0 ml kháng độc tố bạch hầu chuẩn sẽ có chứa 1 IU/ml.

Hiệu giá của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm được tính như sau:

$$\text{Hiệu giá (IU/ml)} = 1,0 \times N$$

Trong đó:

N là số lần pha loãng kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm; 1,0 là số IU có trong dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn dùng để trung hòa 30 L<sup>+</sup>/30 trong thử nghiệm.

### 15.16 XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ HUYẾT THANH KHÁNG ĐỘC TỐ UỐN VÁN

Hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván được xác định bằng cách so sánh mức độ bảo vệ giữa liều kháng độc tố uốn ván thử nghiệm và kháng độc tố uốn ván chuẩn đối với chuột nhắt trắng có cân nặng từ 16 g đến 18 g sau khi đã trung hòa một lượng cố định độc tố uốn ván.

#### Xác định liều độc tố uốn ván thử nghiệm (L<sup>+</sup>/10)

L<sup>+</sup>/10 là lượng độc tố uốn ván nhỏ nhất còn lại sau khi trung hòa với 0,1 IU của kháng độc tố uốn ván chuẩn đủ để gây chết 1 chuột có trọng lượng đã xác định trong thời gian 96 h.

Pha kháng độc tố uốn ván chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch kháng độc tố uốn ván chứa 0,5 IU/ml.

Pha độc tố uốn ván với dung dịch Jensen pepton để có dung dịch độc tố uốn ván 3 Lf/ml đến 5 Lf/ml.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 1,0 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn chứa 0,5 IU/ml, một thể tích thay đổi dung dịch độc tố uốn ván (ví dụ 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml... tùy theo độc tính của độc tố uốn ván) và nước muối sinh lý để vừa đủ 2,5 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống nghiệm và để yên ở 37 °C trong 45 min, tránh ánh sáng.

Tiêm 0,5 ml dưới da lưng cho mỗi chuột nhắt, dùng 4 chuột cho mỗi độ pha.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết trong 96 h.

Cách xác định: Hỗn dịch nào có lượng độc tố thấp nhất sau khi tiêm gây chết chuột trong vòng 96 h sẽ có chứa lượng độc tố 5 L<sup>+</sup>/10 trong 2,5 ml hay 1 L<sup>+</sup>/10 trong 0,5 ml (một liều tiêm/1 chuột).

#### Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván

Hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván là số đơn vị quốc tế (IU) kháng độc tố uốn ván có trong 1,0 ml huyết thanh thử nghiệm.

Pha huyết thanh kháng độc tố uốn ván chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch chứa 0,5 IU/ml.

Pha độc tố uốn ván với dung dịch Jensen pepton để có dung dịch độc tố uốn ván chứa 5 L<sup>+</sup>/10 trong 1 thể tích xác định.

Pha huyết thanh kháng độc tố uốn ván thử nghiệm với nước muối sinh lý để có các độ pha 1/2600; 1/2800; 1/3000; 1/3200; 1/3400;... tùy theo hiệu giá có thể có được của kháng độc tố uốn ván thử nghiệm.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 1 thể tích dung dịch độc tố uốn ván chứa 5L<sup>+</sup>/10; 1,0 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván thử nghiệm ở mỗi độ pha loãng và nước muối sinh lý để vừa đủ 2,5 ml trong mỗi ống nghiệm.

Pha mẫu chứng: Cho vào 3 ống nghiệm lần lượt: Một thể tích dung dịch độc tố uốn ván chứa 5 L<sup>+</sup>/10, một trong 3 lượng 0,9 ml; 1,0 ml; 1,1 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn chứa 0,5 IU/ml và sau đó một lượng nước muối sinh lý để vừa đủ 2,5 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống nghiệm và để yên ở 37 °C trong 45 min, tránh ánh sáng.

Tiêm 0,5 ml dưới da lưng cho mỗi chuột nhắt, dùng 4 chuột cho mỗi độ pha.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết trong 96 h.

#### Cách tính hiệu giá

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi mẫu chứng có chứa 0,9 ml và 1,0 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn gây chết 100 % chuột trong vòng 96 h và mẫu có chứa 1,1 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn không được gây chết chuột trong thời gian theo dõi.

Dung dịch nào có chứa lượng kháng độc tố uốn ván thử nghiệm lớn nhất không bảo vệ được chuột trong thời gian 96 h giống như mẫu chứng có chứa 1,0 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn sẽ có chứa 0,5 IU/ml.

Hiệu giá của huyết thanh kháng độc tố uốn ván được tính như sau:

$$\text{Hiệu giá (IU/ml)} = 0,5 \times N$$

Trong đó:

N là số lần pha loãng kháng độc tố uốn ván thử nghiệm; 0,5 là số IU có trong 1 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn dùng trong thử nghiệm.

### 15.17 XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ HUYẾT THANH KHÁNG ĐẠI

Hiệu giá huyết thanh kháng đại được xác định dựa trên nguyên lý của phản ứng trung hòa in vivo của một liều cố định virus đại thử thách với các độ pha loãng khác nhau của huyết thanh kháng đại. Tiến hành trên chuột nhắt trắng.