

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⁺/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⁺/10)

L⁺/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⁺/10 trong 2,5 ml hay 1 L⁺/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⁺/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⁺/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⁺/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.