

**Tiêu chuẩn chấp thuận**

Có hiện tượng lên bông khi làm phản ứng với huyết thanh chuẩn kháng độc tố bạch hầu, uốn ván và có phản ứng ngưng kết với huyết thanh chuẩn ho gà đặc hiệu týp 1, 2, 3. Hàm lượng Lf/ml của giải độc tố bạch hầu ≤ 30 Lf/ml. Hàm lượng Lf/ml của giải độc tố uốn ván ≤ 10 Lf/ml.

**15.20 XÁC ĐỊNH ĐỘC TỐ THẦN KINH TỒN DƯ TRONG VẮC XIN BẠI LIỆT UỐNG**

Khi dùng để thử nghiệm có cân nặng không dưới 1,5 kg. Dùng khi loài *Macaca* hoặc *Cercopithecus*. Hỗn dịch bán thành phẩm đã lọc phải thử song song với chế phẩm chuẩn bằng cách tiêm vào sừng trước tủy sống khi đoạn thắt lưng. Trước khi tiêm phải lấy máu khí và kiểm tra để chứng tỏ huyết thanh của chúng không chứa kháng thể trung hòa đối với từng týp virus bại liệt. Những tiêu bản tổ chức học khi đã đọc xong cần phải được lưu lại trong thời gian 10 năm để làm bằng chứng.

**Số lượng khí**

Vắc xin thử và mẫu chuẩn đồng týp cần thử nghiệm song song với số lượng khí bằng nhau. Phân chia ngẫu nhiên nhóm khí sẽ được tiêm vắc xin thử hoặc mẫu chuẩn. Phải đạt được ít nhất 11 khí dương tính cho vắc xin thử và ít nhất 11 khí dương tính cho mẫu chuẩn đối với týp 1 và týp 2 (khí dương tính là khí có những tổn thương thần kinh đặc hiệu do virus bại liệt ở hệ thần kinh trung ương nhưng không bị liệt). Đối với týp 3 phải có ít nhất 18 khí dương tính cho vắc xin thử và 18 khí dương tính cho mẫu chuẩn. Có thể tiêm một lúc nhiều loại vắc xin bán thành phẩm mà chỉ cần 1 mẫu chuẩn đồng týp.

Để có thể có được 11 và 18 khí dương tính thường là tiêm 12 và 20 khí tương ứng.

Gây mê khi bằng ketamin hydroclorid hoặc những thuốc gây mê phù hợp khác.

**Hàm lượng virus của vắc xin thử và mẫu chuẩn trong liều tiêm**

Hàm lượng virus của vắc xin thử và mẫu chuẩn đồng týp tiêm cho khí phải càng giống nhau càng tốt và nằm trong khoảng 10<sup>5.5</sup> đến 10<sup>6.5</sup> CCID<sub>50</sub>/0,1 ml. Chỉ tiêm một đậm độ.

**Theo dõi khí sau tiêm**

Theo dõi khí sau tiêm từ 17 ngày đến 22 ngày để phát hiện triệu chứng nghi do virus bại liệt hoặc các virus khác. Những khí sống qua 24 h và chết trước 11 ngày sau tiêm cần phải giải phẫu để xác định xem có phải chết do virus bại liệt hay không.

Tất cả những khí chết do những nguyên nhân không phải virus bại liệt thì không tính vào kết quả nhưng vẫn phải ghi vào phiếu theo dõi.

Những khí liệt nặng hoặc hấp hối và tất cả những khí sống qua giai đoạn theo dõi đều phải giải phẫu đại thể và vi thể.

**Số lượng các tiêu bản phải đánh giá**

*Phải làm tiêu bản từng con khi để kiểm tra tổ chức học ít nhất các vùng sau:*

Tủy sống: Vùng phình lưng, vùng phình cổ.

Phần trên và phần dưới của hành tủy.

Não giữa (mesocephalon).

Cầu não, tiểu não.

Đồi thị.

Vùng vận động của vỏ não.

Tiêu bản cắt mỏng 8 μm đến 15 μm và nhuộm gallocyanin hoặc nhuộm Nissl.

*Số tiêu bản tối thiểu phải kiểm tra như sau:*

12 tiêu bản đại diện cho vùng phình lưng.

10 tiêu bản đại diện cho vùng phình cổ.

2 tiêu bản vùng hành tủy.

1 tiêu bản vùng cầu não và tiểu não.

1 tiêu bản não giữa.

Đồi thị phải và trái, mỗi bên 1 tiêu bản.

Vỏ não bán cầu phải và trái mỗi bên 1 tiêu bản.

**Cho điểm hoạt tính virus trên tiêu bản**

Dùng phương pháp cho điểm theo mức độ tổn thương để đánh giá hoạt tính của virus trong từng nửa tiêu bản. Kiểu tổn thương như là thâm nhiễm tế bào hoặc phá hủy tế bào thần kinh đều quan trọng, các tổn thương được cho điểm như sau:

Điểm 1 - Chỉ có thâm nhiễm tế bào (điểm này không đủ để tính là khí dương tính).

Điểm 2 - Thâm nhiễm tế bào và có hủy hoại neuron tối thiểu.

Điểm 3 - Thâm nhiễm tế bào với hủy hoại nhiều neuron.

Điểm 4 - Hủy hoại nhiều neuron có hoặc không có thâm nhiễm tế bào.

Ghi điểm và báo cáo theo biểu mẫu chuẩn.

Khí có tổn thương neuron nhưng không có vết tiêm vẫn được coi là khí (+).

Khí có vết tiêm trên tiêu bản nhưng không có tổn thương neuron là khí (-).

Tiêu bản có tổn thương do tiêm nhưng không có tổn thương virus đặc hiệu thì không tính điểm.

Đọc và cho điểm từng nửa tiêu bản (NTB) của vùng thắt lưng (L); cổ (C); não (B).

Điểm tổn thương của từng con khi dương tính được tính như sau:

$$LS = \frac{\frac{\text{Tổng số điểm L}}{\text{Tổng số NTB}} + \frac{\text{Tổng số điểm C}}{\text{Tổng số NTB}} + \frac{\text{Tổng số điểm B}}{\text{Tổng số NTB}}}{3}$$

**Đánh giá thử nghiệm độc tính thần kinh**

Dựa trên hoạt tính ở vùng phình lưng và mức độ lan truyền lên vùng phình cổ và não, so sánh hoạt tính giữa vắc xin thử và mẫu chuẩn.

Việc xuất xương hoặc hủy bỏ vắc xin dựa trên điểm tổng thể của toàn bộ súc vật thử nghiệm. Những khí có hoạt tính