

cao khác thường hoặc ở vùng thắt lưng hoặc ở mức độ lan truyền đều phải tính đến trong đánh giá cuối cùng. Bán thành phẩm đã lọc đạt tiêu chuẩn nếu số khi dương tính đạt yêu cầu và không có khác biệt có ý nghĩa thống kê về lâm sàng cũng như tổ chức học giữa vắc xin thử và mẫu chuẩn.

15.21 XÁC ĐỊNH CÔNG HIỆU CỦA VẮC XIN BẠI LIỆT UỐNG

Xác định công hiệu (hiệu giá) của vắc xin bại liệt uống gồm 2 nội dung:

Xác định hiệu giá virus trong vắc xin bán thành phẩm (đơn týp).

Xác định hiệu giá virus trong vắc xin thành phẩm (tam liên).

Xác định hiệu giá virus trong vắc xin bán thành phẩm (đơn týp)

Nguyên tắc

Công hiệu của vắc xin phòng bại liệt uống được xác định bởi liều gây hủy hoại 50 % tế bào cảm thụ Hep-2 Cincinnati (CCID₅₀) trong phương pháp vi lượng.

Tiến hành

Pha loãng bậc 10 mẫu chuẩn và vắc xin cần thử từ 10⁻¹ đến 10⁻⁸ bằng môi trường duy trì tế bào.

Cho 0,1 ml các đậm độ virus vào mỗi giếng của phiên nhựa, mỗi đậm độ dùng từ 8 giếng đến 10 giếng.

Cho 0,1 ml hỗn dịch tế bào chứa 1.10⁴ tế bào Hep-2 vào mỗi giếng.

Đậy nắp phiên nhựa và cho các phiên nhựa vào tủ 5 % CO₂, nhiệt độ nuôi cấy là 34 °C đến 36 °C trong 7 ngày.

Theo dõi

Theo dõi sự hủy hoại của tế bào từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 7.

Tính kết quả

Đọc kết quả cuối cùng vào ngày thứ 7 và xử lý số liệu theo phương pháp thống kê Reed-Muench hoặc Karber.

Thí nghiệm có giá trị nếu hiệu giá của vắc xin mẫu chuẩn sai số ± 0,5 so với hiệu giá đã biết (tính theo log₁₀ hiệu giá).

Xác định hiệu giá của vắc xin bại liệt uống trong thành phẩm tam liên

Nguyên tắc

Vắc xin bại liệt uống tam liên bao gồm 3 týp virus bại liệt sống giảm độc, do đó cần xác định hiệu giá của từng týp thành phần (týp 1, týp 2, týp 3) và hiệu giá tổng cả 3 týp (týp 1 + týp 2 + týp 3). Muốn chuẩn độ hiệu giá của từng týp phải dùng kháng huyết thanh (KHT) đặc hiệu để trung hòa 2 týp còn lại. Hiệu giá của vắc xin Sabin được tính bằng lượng virus Sabin gây hủy hoại 50 % tế bào cảm thụ trong 1 liều dùng cho người (số CCID₅₀/0,1 ml) (CCID₅₀: Cell Culture Infective Dose).

Các bước tiến hành

Pha loãng bậc 0,5 lg vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin thử bằng môi trường duy trì.

Pha hỗn dịch kháng huyết thanh số 1 chứa kháng huyết thanh týp 2 và týp 3.

Pha hỗn dịch kháng huyết thanh số 2 chứa kháng huyết thanh týp 1 và týp 3.

Pha hỗn dịch kháng huyết thanh số 3 chứa kháng huyết thanh týp 1 và týp 2.

Cho 0,05 ml/giếng hỗn dịch kháng huyết thanh số 1 vào phiên số 1 (xác định hiệu giá týp 1).

Cho 0,05 ml/giếng hỗn dịch kháng huyết thanh số 2 vào phiên số 2 (xác định hiệu giá týp 2).

Cho 0,05 ml/giếng hỗn dịch kháng huyết thanh số 3 vào phiên số 3 (xác định hiệu giá týp 3).

Cho 0,05 ml/giếng môi trường duy trì vào tất cả các giếng của phiên số 4 (xác định hiệu giá tổng).

Cho 0,05 ml của từng độ pha loãng vắc xin vào các dây tương ứng của cả 4 phiên, mỗi độ pha loãng gây nhiễm 8 giếng. Bắt đầu gây nhiễm từ độ pha loãng cao nhất.

Thêm 0,05 ml môi trường duy trì vào các giếng chứng huyết thanh (SC - serum control) và chứng tế bào (CC - cell control).

Đậy nắp phiên cho vào tủ ẩm 5 % CO₂. Trong trường hợp để tủ ẩm thường thì gói kín trong giấy bạc hoặc trong túi nilon.

Ủ ở nhiệt độ 36 °C trong vòng 3 h để virus và kháng huyết thanh đặc hiệu kết hợp với nhau.

Chuẩn bị hỗn dịch tế bào Hep-2 nồng độ 1 - 2 × 10⁵/ml rồi cho 0,1 ml hỗn dịch này vào toàn bộ các giếng của cả 4 phiên. Nồng độ này thường đảm bảo tế bào sẽ mọc thành 1 lớp trên phiên trong vòng 2 ngày đến 3 ngày.

Đậy nắp phiên rồi cho vào tủ ẩm 5 % CO₂. Trong trường hợp để ở tủ ẩm thường thì dán kín bằng màng dán phiên (microtest film).

Ủ ở 36 °C trong 7 ngày.

Theo dõi và tính kết quả

Theo dõi sự hủy hoại của tế bào và tính kết quả như đã trình bày ở phần trên. Tế bào ở các giếng chứng huyết thanh và chứng tế bào phải phát triển tốt.

Vắc xin thành phẩm coi như đạt yêu cầu nếu:

Týp 1 có ít nhất 10^{6,0} CCID₅₀/0,1 ml

Týp 2 có ít nhất 10^{5,0} CCID₅₀/0,1 ml

Týp 3 có ít nhất 10^{5,5} CCID₅₀/0,1 ml

Toàn bộ quy trình xác định công hiệu của vắc xin bại liệt uống phải được tiến hành trong điều kiện vô khuẩn.