

15.22 XÁC ĐỊNH CÔNG HIỆU THÀNH PHẦN UỐN VÁN TRONG VẮC XIN HẤP PHỤ CHỨA GIẢI ĐỘC TỔ UỐN VÁN

Công hiệu của thành phần uốn ván trong vắc xin DTwP được xác định bằng phương pháp so sánh liều hữu hiệu 50 % (ED_{50}) của vắc xin chuẩn và vắc xin thử. Kết quả được tính bằng phần mềm Probit analysis (phần mềm WHO program).

Miễn dịch

Pha vắc xin

Sử dụng ít nhất 3 đến 4 độ pha loãng bậc 2 nhưng không quá 5 độ pha cho cả vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử trong dung dịch đệm sinh lý (dung dịch natri clorid 0,85 %).

Các độ pha vắc xin được chọn trên nguyên tắc ED_{50} không nằm lệch ngoài khoảng giữa độ pha loãng cao nhất (liều miễn dịch thấp nhất) và độ pha loãng thấp nhất (liều miễn dịch cao nhất), có nghĩa là chọn sao cho ở độ pha loãng có thể bảo vệ được 50 % động vật thí nghiệm rơi vào giữa đường cong.

Tại mỗi phòng thí nghiệm có thể căn cứ vào các số liệu trước đó và chủng loại chuột sử dụng trong thử nghiệm để chọn độ pha phù hợp. Nếu không có các số liệu trước đó có thể tham khảo cách pha dưới đây.

Đối với vắc xin mẫu chuẩn, có thể chọn 3 độ pha bậc 2, trong đó độ pha loãng thấp nhất (độ pha đầu tiên) chứa 20 IU/ml. Các độ pha tiếp theo là 10 IU/ml và 5 IU/ml.

Đối với vắc xin thử, tùy theo hàm lượng kháng nguyên giải độc tố uốn ván chứa trong vắc xin và bản chất của loại vắc xin (hấp phụ, có hay không có thành phần ho gà) có thể chọn 1 trong 2 dải pha loãng bậc 2 với độ pha loãng đầu tiên 1/10 đến 1/15 (vắc xin TT, TD, Td) hay 1/25 đến 1/40 (vắc xin DTP, DTP - Hib - Heb...). Các độ pha tiếp theo theo bậc 2 tính từ độ pha đầu tiên.

Tiêm miễn dịch

Mỗi độ pha của vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử được tiêm dưới da ít nhất cho 16 chuột nhắt trắng khỏe mạnh, có cân nặng mỗi chuột từ 14 g đến 20 g nhưng không được chênh lệch quá 4 g, liều tiêm mỗi con 0,5 ml. Dùng chuột cùng giới tính; nếu không cùng giới tính phải chia đều số chuột đực, cái vào các nhóm và nhốt riêng. Sau tiêm miễn dịch, chăm sóc và theo dõi chuột trong 28 ngày và tiến hành tiêm thử thách.

Tiêm thử thách

Xác định liều độc tố thử thách

Cần xác định liều độc tố uốn ván (LD_{50}) trước khi thử thách.

Liều độc tố gây chết khoảng 50 % số chuột thử nghiệm vào ngày thứ 4 (sau 96 h) được xác định là 1 LD_{50}

Tiêm thử thách

Dựa vào kết quả LD_{50} được xác định ở trên để độ pha dung

dịch độc tố thử thách tương ứng với 100 LD_{50} /ml trong dung dịch Jensen vô khuẩn có 1 % pepton.

Sau 28 ngày toàn bộ chuột đã miễn dịch bởi vắc xin mẫu chuẩn và mẫu thử được tiêm dưới da 0,5 ml với liều độc tố thử thách chứa 100 LD_{50} /ml (50 LD_{50} /0,5 ml).

Nhóm chuột chứng: Từ dung dịch độc tố thử thách pha thành 3 độ pha 2 LD_{50} , 1 LD_{50} , 0,5 LD_{50} . Mỗi độ pha tiêm cho 5 chuột nhắt trắng có cân nặng 16 g $\pm$ 0,3 g.

Theo dõi chuột

Theo dõi chuột thử thách hàng ngày trong 5 ngày. Ghi lại số chuột sống, chết, liệt ở mỗi độ pha miễn dịch của cả vắc xin mẫu thử và mẫu chuẩn.

Triệu chứng liệt uốn ván:

Liệt cứng hoặc co giật kích động (sau thử thách 2 ngày).

Chuột đi nhón cao chân và chân sau liệt co cứng tiếp đến 2 chân trước. Khi nắm vào chuột cảm thấy rất cứng do các cơ bị co cứng, cổ cong vẹo về phía lưng. Khi kích thích bằng tiếng động như quẹt bút trên nắp thanh lồng chuột, những chuột này sẽ phản ứng bằng cách co cứng cơ hoặc co giật.

Tính kết quả

Dựa vào số chuột sống sót trong mỗi độ pha, công hiệu được xác định bằng phương pháp Probit analysis (Phần mềm WHO program).

Thử nghiệm có giá trị tin cậy nếu

Liều độc tố thử thách chứng minh được chứa từ 50 đến 200 LD_{50} .

Ở độ pha loãng thấp nhất (liều miễn dịch cao nhất) bảo vệ được trên 50 % động vật thí nghiệm.

Ở độ pha loãng cao nhất (liều miễn dịch thấp nhất) bảo vệ được ít hơn 50 % động vật thí nghiệm. Đồ thị biểu diễn sự tương quan giữa liều miễn dịch và đáp ứng trên chuột của cả vắc xin chuẩn và vắc xin thử phải song song và tuyến tính.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Tiêu chuẩn công hiệu của thành phần uốn ván trong vắc xin tùy theo tiêu chuẩn quy định của Tổ chức y tế thế giới cho loại vắc xin đó. Trong đó giới hạn tin cậy, công hiệu của vắc xin phải nằm trong khoảng từ 50 % đến 200 % so với công hiệu quy định và giới hạn dưới phải đạt tối thiểu bằng tiêu chuẩn công hiệu quy định của vắc xin đó.

15.23 XÁC ĐỊNH CÔNG HIỆU THÀNH PHẦN BẠCH HẦU TRONG VẮC XIN HẤP PHỤ CHỨA GIẢI ĐỘC TỔ BẠCH HẦU

Xác định công hiệu của giải độc tố bạch hầu hoặc thành phần bạch hầu trong vắc xin phối hợp, hấp phụ được xác định bằng 1 trong 2 phương pháp: Thử thách trên chuột lang hoặc chuẩn độ huyết thanh chuột nhắt trên tế bào Vero.

PHƯƠNG PHÁP THỬ THÁCH TRÊN CHUỘT LANG

Miễn dịch cho chuột

Sử dụng ít nhất 3 độ pha loãng bậc 2 (nhưng không quá 5 độ pha) cho cả vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin thử. Mỗi độ