

Tiêu chuẩn chấp thuận

Vắc xin đạt yêu cầu nếu công hiệu không ít hơn 4 IU trong một liều đơn vắc xin cho người và giới hạn dưới của 95 % khoảng tin cậy của công hiệu tìm được không ít hơn 2 IU trong một liều đơn vắc xin cho người.

Nếu thử nghiệm lần 1 có giá trị (valid) và đạt tiêu chuẩn chấp thuận thì vắc xin đó coi như đạt yêu cầu về công hiệu. Nhưng nếu không đạt tiêu chuẩn chấp thuận thì thử nghiệm đó phải được làm nhắc lại. Công hiệu vắc xin đạt tiêu chuẩn chấp thuận khi kết quả trung bình nhân của các lần thử nghiệm có giá trị không thấp hơn tiêu chuẩn chấp thuận cho phép.

Nếu lần 1 không đạt yêu cầu và thử nghiệm không có giá trị (invalid) thì phải làm lại thử nghiệm. Kết quả lần thử nghiệm đầu sẽ không được dùng để xem xét. Nếu kết quả lần thử nghiệm nhắc lại có giá trị và đạt tiêu chuẩn chấp thuận thì loạt vắc xin đó coi như đạt yêu cầu về công hiệu. Nếu không đạt yêu cầu thì phải làm lại như ở trên.

15.25 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG FORMALDEHYD TỒN DƯ TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM**Nguyên lý**

Có hai phương pháp xác định hàm lượng formaldehyd tồn dư trong vắc xin và sinh phẩm như sau:

Phương pháp 1: Dựa vào phản ứng tạo chất màu chinol dưới tác dụng của thuốc thử fuchsin và aldehyd hòa tan trong nước.

Phương pháp 2: Định lượng formaldehyd bằng cách so màu của 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidin ở bước sóng 415 nm. Phức hợp tạo thành có màu vàng chanh do phản ứng của formaldehyd tự do trong mẫu thử với acetylaceton và amoni trong môi trường acid nhẹ.

Cách tiến hành**Phương pháp 1**

Lấy 1 ml mẫu thử, cho nước cất vừa đủ 5 ml, thêm vào 1 ml thuốc thử fuchsin acid, trộn đều; đặt ống nghiệm bằng nút cao su và đợi 1 h. Đo mật độ quang học của dung dịch bằng kính lọc màu tím than (bước sóng 400 nm $\pm$ 5 nm).

Tiến hành làm song song trên mẫu trắng theo trình tự như trên nhưng thay 1 ml mẫu thử bằng 1 ml nước cất.

Kết quả xác định được bằng cách so màu của mẫu vắc xin thử với dung dịch chuẩn có mật độ quang học gần nhau nhất.

Dụng cụ chuẩn:

Lấy 1 ml dung dịch formaldehyd chuẩn 0,4 % thêm nước cất vừa đủ 100 ml vào (dung dịch 0,004 %).

Lấy 0,5 ml, 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml, 4,0 ml, 5,0 ml dung dịch chuẩn formaldehyd 0,004 % cho vào các ống nghiệm và cho nước cất vừa đủ 5,0 ml, thêm 1,0 ml dung dịch thuốc thử. Đợi 1 h sau đó tiến hành phân tích như đã mô tả ở trên.

Cách pha dung dịch formaldehyd chuẩn 0,4 %: Trước khi pha tiến hành xác định sơ bộ hàm lượng formaldehyd có trong dung dịch formaldehyd (dung dịch phải chứa không ít hơn 37 % formaldehyd). Cân 1 g dung dịch formaldehyd 40 % (cân chính xác, trong trường hợp dung dịch chứa ít

hơn 40 % thì phải tính toán lại cho thích hợp) cho vào một bình định mức 100 ml, cho nước cất vừa đủ tới vạch (dung dịch 0,4 %). Trước khi dùng pha loãng 100 lần.

Cách pha thuốc thử fuchsin: Hòa tan 2 g fuchsin kiềm vào 120 ml nước cất đã đun sôi, để nguội. Hòa 2 g natri sulfat (TT) vào 20 ml nước cất và trộn vào dung dịch trên, thêm 2 ml acid hydrocloric (TT). Cho nước cất vừa đủ 200 ml và chờ ít nhất 1 h mới đem sử dụng. Dung dịch này phải luôn luôn mới.

Phương pháp 2

Lấy khoảng 3 ml đến 4 ml mẫu thử ly tâm 4000 rpm trong 10 min, lấy phần nước (nếu mẫu thử trong thì không cần ly tâm). Pha loãng mẫu thử nếu cần thiết.

Lấy chính xác 3 ml mẫu thử cho vào ống nghiệm.

Dụng cụ chuẩn: Pha loãng 10 lần dung dịch formaldehyd chuẩn 0,04 %, từ đó pha các dung dịch formaldehyd chuẩn 0,0002 %; 0,0004 %; 0,0008 %; 0,0012 %.

Lấy chính xác 3 ml các dung dịch chuẩn đã pha loãng vào các ống nghiệm.

Mẫu trắng dùng 3 ml nước cất.

Thêm 3 ml dung dịch acetylaceton vào mỗi ống nghiệm đựng mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu thử.

Lắc đều, đun cách thủy 100 °C trong 15 min.

Để nguội ở nhiệt độ phòng.

Tiến hành đo mật độ quang ở bước sóng 415 nm.

Cách tính kết quả:

$$X = n \times a$$

Trong đó:

X là hàm lượng formaldehyd có trong mẫu thử (%);

a là hàm lượng formaldehyd có trong mẫu thử tìm được trên đường chuẩn (%);

n là độ pha loãng mẫu.

Cách pha dung dịch formaldehyd chuẩn 0,04 %: Cân 311 mg hexamethylentetramin hòa tan trong vừa đủ 1000 ml nước cất, dung dịch có chứa 0,04 % formaldehyd, bảo quản dung dịch ở nhiệt độ phòng dùng trong 6 tháng.

Cách pha dung dịch acetylaceton: Cân 150 g amoni acetat (TT), hòa tan trong khoảng 500 ml nước cất. Thêm 3 ml acid acetic đậm đặc (TT), 2 ml acetylaceton (TT), khuấy đều, thêm nước cất vừa đủ 1000 ml. Bảo quản dung dịch ở 2 °C đến 8 °C, dùng trong 2 tháng.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Mỗi loại vắc xin, sinh phẩm có tiêu chuẩn khác nhau. Các tiêu chuẩn này dựa theo quy định của WHO cho từng loại vắc xin và sinh phẩm. Tuy nhiên, lượng formaldehyd tồn dư trong vắc xin, sinh phẩm không được vượt quá 0,02 %.

15.26 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NATRI CLORID VỚI SỰ CÓ MẶT CỦA PROTEIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG GIÁN TIẾP (PHƯƠNG PHÁP CHARPENTIER-VOLHARD)**Nguyên lý**

Phương pháp dựa trên phản ứng của ion Cl⁻ với một lượng bạc nitrat thừa.