

Sau 72 h tổng khối lượng chuột của mỗi nhóm không ít hơn trước tiêm.

Sau 7 ngày khối lượng trung bình mỗi chuột không ít hơn 60 % so với nhóm chứng.

Chuột chết không quá 5 %.

Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt một trong 3 tiêu chuẩn nêu trên phải nhắc lại thử nghiệm theo yêu cầu như sau:

Nếu thử nghiệm lần 1 không có giá trị (invalid test): Nhắc lại thử nghiệm với số lượng chuột và số lượng mẫu bằng lần 1.

Nếu thử nghiệm lần 1 có giá trị (valid test): Phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng chuột nhất trắng và số lượng mẫu gấp đôi so với lần 1.

Kết quả của lần kiểm tra nhắc lại, nếu đạt yêu cầu 3 tiêu chuẩn nêu trên và giá trị trung bình của 2 lần thử nghiệm (về % tăng khối lượng chuột của nhóm vắc xin thử nghiệm so với nhóm chứng sau 7 ngày theo dõi) đạt yêu cầu thì loạt vắc xin đó mới được coi là đạt yêu cầu về an toàn đặc hiệu ho gà. Nếu ở lần kiểm tra nhắc lại không đạt yêu cầu thì loạt vắc xin đó không đạt yêu cầu an toàn đặc hiệu thành phần ho gà và phải bị hủy bỏ.

An toàn không đặc hiệu (Độc tính bất thường)

Thử nghiệm được tiến hành trên chuột nhất trắng và chuột lang khỏe mạnh không tiêm bất cứ gì trước khi thử nghiệm.

Tiêm vào ổ bụng cho 5 chuột nhất trắng có khối lượng 17 g/con đến 22 g/con, mỗi con một liều tiêm cho người; 2 chuột lang có khối lượng 250 g/con đến 350 g/con, mỗi con một liều tiêm cho người nhưng không quá 1 ml/con.

Theo dõi tình trạng sức khoẻ và cân chuột hàng ngày.

Tiêu chuẩn chấp thuận:

Vắc xin được coi là không có độc tính bất thường nếu tất cả các động vật thí nghiệm sống khỏe mạnh và lên cân trong thời gian ít nhất 7 ngày và không có dấu hiệu nhiễm độc.

Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt yêu cầu nêu trên, phải nhắc lại thử nghiệm. Thử nghiệm nhắc lại nếu đạt yêu cầu thì loạt vắc xin đó được coi là đạt an toàn không đặc hiệu; nếu không đạt yêu cầu thì loạt vắc xin đó bị coi là không đạt an toàn không đặc hiệu và phải hủy bỏ.

Đối với thử nghiệm nhắc lại:

Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm có giá trị: phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số lượng chuột gấp đôi lần 1.

Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm không có giá trị: chỉ cần nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số lượng chuột bằng lần 1.

15.5 XÁC ĐỊNH ĐẬM ĐỘ VI KHUẨN HO GÀ

Nguyên tắc

Thực tế một hỗn dịch vi khuẩn ho gà có đậm độ 10 tỷ vi khuẩn/ml tương ứng với 10 IOU (đơn vị độ đục quốc tế) khi nhìn bằng mắt thường.

Có thể sử dụng bộ so độ đục chuẩn quốc tế của WHO để so bằng mắt thường hoặc chuẩn trên máy quang phổ kế khi xác định đậm độ của hỗn dịch *B. pertussis* 18323 trong thử nghiệm công hiệu vắc xin ho gà.

Cách tiến hành

Trong quá trình sản xuất vắc xin ho gà, mỗi lần gặt sinh khối cần xác định đậm độ vi khuẩn của nước cốt ho gà. Độ đục nước cốt ho gà và nước cốt ho gà cô đặc được xác định bằng cách so sánh với ống mẫu chuẩn quốc tế hoặc quốc gia và quan sát bằng mắt thường hoặc đo trên máy quang phổ kế (không được muộn hơn hai tuần sau khi gặt và trước khi huyền dịch vi khuẩn được đưa vào bất kỳ quy trình pha chế nào tiếp theo).

Pha loãng nước cốt trong nước muối sinh lý cho đến khi soi bằng mắt thường thấy tương đương với ống chuẩn 10 IOU.

Tính độ đục của mẫu thử bằng cách nhân với số lần pha loãng.

Có thể đo độ đục của huyền dịch vi khuẩn ho gà trên máy đo quang phổ ở bước sóng 560 nm. Đậm độ nước cốt ho gà được sử dụng làm cơ sở để tính toán khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Thành phần ho gà trong vắc xin DTP hỗn hợp không vượt quá 20 đơn vị độ đục quốc tế (IOU) trong một liều đơn vắc xin cho người. Tỷ lệ thành phần các chủng *B. pertussis* 18323 không được thay đổi khi phối trộn, phải đăng ký rõ trong hồ sơ và được sự chấp thuận của cơ quan Kiểm định quốc gia.

15.6 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TWEEN 20 TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Dựa vào phản ứng của polyethoxylat trong thành phần của Tween 20 với amoni cobaltothiocyanat tạo thành hợp chất màu xanh lơ tan trong dicloromethan.

Tiến hành

Mẫu thử được điều chỉnh bằng nước cất để có nồng độ protein khoảng 100 µg/ml. Hút 1 ml mẫu thử vào ống nghiệm, thêm 5 ml ethanol 95 % (TT), ly tâm 3500 rpm trong 10 min ở 20 °C. Chuyển phần nước sang ống nghiệm khác, rửa tủa bằng 1 ml ethanol 95 % (TT), chuyển nốt nước rửa tủa vào ống nghiệm. Đun cách thủy phần nước thu được ở 80 °C cho đến khi còn lại khoảng 0,5 ml, thêm 1 ml nước cất vào ống nghiệm.

Hút dung dịch Tween 20 chuẩn 1 mg/ml vào các ống nghiệm lần lượt theo thể tích 10 µl; 25 µl; 50 µl; 75 µl; 100 µl, thêm nước cất vừa đủ 1 ml.

Mẫu trắng là 1 ml nước cất.

Thêm 2 ml dicloromethan (TT) vào mỗi ống nghiệm đựng mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử. Thêm tiếp 3 ml amoni cobaltothiocyanat, lắc kỹ, để yên ở nhiệt độ phòng trong 90 min. Hút bỏ phần nước nổi bằng máy hút chân không, đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) của lớp dicloromethan màu xanh lơ phía dưới ở bước sóng 620 nm.