

Yêu cầu:

Độ nhạy của chứng dương nằm trong khoảng từ 1/2 đến gấp đôi, thử nghiệm có giá trị.

Nếu độ nhạy của lysate ghi trên nhãn là 0,125 EU/ml thì độ nhạy thực tế của thí nghiệm có thể từ 0,06 - 0,25 EU/ml.

Nếu hiện tượng đông gel của lysate không rõ ràng, phải làm lại thử nghiệm.

Formaldehyd

Không được quá 0,2 g/L (Phụ lục 15.25).

Chất bảo quản

Xác định hàm lượng chất bảo quản bằng phương pháp hóa học thích hợp. Hàm lượng chất bảo quản trong vắc xin không thấp hơn hàm lượng tối thiểu có hiệu lực và không lớn hơn 115 % hàm lượng ghi trên nhãn (Phụ lục 15.29).

Cảm quan

Mỗi loại vắc xin thành phẩm sau khi sản xuất phải được kiểm tra bằng cảm quan để đảm bảo các lọ hay ống vắc xin trước khi xuất xưởng đều phải đạt yêu cầu, không có dấu hiệu bất thường như: Có vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút không chặt và/hoặc không đảm bảo tính nguyên vẹn. Trong quá trình kiểm tra, nếu ống hay lọ vắc xin nào không đạt yêu cầu phải được loại bỏ.

Đóng gói và bảo quản

Vắc xin cúm bất hoạt được đóng trong lọ thủy tinh trung tính 0,5 ml/lọ hoặc 0,25 ml/lọ và phải được bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Nếu sử dụng trong điều kiện bảo quản khác thì điều kiện bảo quản này phải được thẩm định đầy đủ và được phê chuẩn bởi cơ quan kiểm định quốc gia.

Hạn dùng

Hạn sử dụng phải được phê chuẩn bởi Cơ quan kiểm định quốc gia. Nói chung hạn sử dụng không vượt quá 1 năm tính từ ngày sản xuất, bởi vì các chủng virus có thể không phù hợp cho năm sau.

Liều dùng

Tiêm bắp hoặc tiêm dưới da. Thường là vùng cơ delta.

Liều tiêm: Từ 6 tháng đến 35 tháng tuổi tiêm 0,25 ml/liều; trên 36 tháng tuổi tiêm 0,5 ml/liều.

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng theo các yêu cầu của quy định hiện hành. Cụ thể như sau:

Vắc xin được sản xuất từ virus phát triển trên phôi trứng gà hay tế bào động vật có vú;

Chủng virus cúm dùng để sản xuất;

Hàm lượng HA tính theo µg/chủng virus/liều ở người;

Tên và hàm lượng tối đa của bất cứ kháng sinh nào có mặt trong vắc xin;

Nhiệt độ khuyến cáo cho quá trình bảo quản và vận chuyển vắc xin;

Hạn sử dụng;

Chỉ rõ các liều đặc biệt (ví dụ: 2 liều) đối với vắc xin đại dịch.

VẮC XIN ĐẠI TẾ BÀO DỪNG CHO NGƯỜI

Vaccinum rabiei ex cellulis ad usum humanum

Vắc xin đại tế bào dùng cho người là một chế phẩm đông khô hoặc dạng lỏng được sản xuất từ chủng virus đại cố định phù hợp, phát triển trên nuôi cấy tế bào và được bất hoạt bằng phương pháp đã được thẩm định. Vắc xin được hồi chính ngay trước khi sử dụng như quy định ghi trên nhãn lọ để tạo ra một dung dịch trong suốt, có thể có màu sắc tùy theo chỉ thị pH có mặt trong vắc xin.

Vắc xin đại tế bào phải đáp ứng các yêu cầu chung của vắc xin dùng cho người.

Sản xuất

Sản xuất vắc xin đại tế bào dựa trên hệ thống chủng virus giống và hệ thống ngân hàng tế bào được sử dụng để virus đại nhân lên. Quy trình sản xuất phải có được hiệu suất vắc xin ổn định, đạt các yêu cầu về tính sinh miễn dịch, tính an toàn và ổn định.

Hệ thống tế bào cho virus nhân lên

Virus đại có thể nhân lên trên tế bào lưỡng bội người, tế bào phôi gà, tế bào Vero hoặc tế bào trứng chuột đất vàng Trung Quốc (CHO - Chinese Hamster Ovary).

Chủng virus giống gốc

Chủng virus đại được sử dụng để sản xuất phải có hồ sơ chi tiết, trong đó ghi rõ nguồn gốc chủng và các đời cây chuyển.

Chủng virus sản xuất được cấy chuyển không quá 5 lần từ chủng giống gốc và chỉ các loạt chủng virus sản xuất đạt các yêu cầu sau đây mới tiếp tục được sử dụng để sản xuất vắc xin.

Nhận dạng: Mỗi loạt chủng virus sản xuất phải được xác định là virus đại bằng kháng thể đặc hiệu với virus đại.

Hiệu giá virus: Nồng độ của mỗi loạt chủng virus sản xuất được xác định bằng phương pháp tiêm truyền trên não chuột hoặc bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trên nuôi cấy tế bào để đảm bảo tính ổn định của quy trình sản xuất.

Vô trùng: Loạt chủng virus sản xuất phải đạt được yêu cầu về vô trùng (Phụ lục 15.7).

Nuôi cấy virus và thu hoạch

Toàn bộ quy trình lưu giữ ngân hàng tế bào và cấy chuyển tế bào đều phải được thực hiện trong điều kiện vô trùng, không có mặt của các tế bào khác loại. Huyết thanh động vật (không được dùng huyết thanh người) được phép sử dụng trong môi trường nuôi cấy, nhưng trong môi trường cuối cùng để duy trì tế bào phát triển giúp virus nhân lên không được chứa huyết thanh động vật, môi trường này có thể chứa albumin huyết thanh người. Huyết thanh và trypsin dùng để tách tế bào và dùng trong môi trường nuôi cấy không được có mặt các tác nhân gây nhiễm ngoại lai. Môi trường nuôi cấy tế bào phải có chỉ thị pH như đó phenol và kháng sinh được phép sử dụng với nồng độ thấp nhất vẫn có được hiệu quả. Khoảng 10 % số lượng tế bào nuôi cấy dùng cho sản xuất được để lại không gây nhiễm,

đây là các tế bào chứng. Hỗn dịch virus được thu hoạch một hoặc nhiều lần trong quá trình nuôi cấy. Nhiều lần thu hoạch từ cùng một loạt nuôi cấy sản xuất có thể trộn lại với nhau và được xem như một mẻ gặt đơn.

Một mẻ gặt đơn phải đạt các yêu cầu sau đây mới được sử dụng để tiến hành bước bất hoạt virus.

Nhận dạng: Mẻ gặt đơn có chứa virus phải được xác định là virus đại bằng kháng thể đặc hiệu.

Hiệu giá virus: Hiệu giá virus được xác định bằng nhiều phương pháp: Tiêm truyền trên não chuột nhắt trắng, kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trên nuôi cấy tế bào hoặc bằng kỹ thuật ELISA. Hiệu giá được sử dụng như một chỉ số theo dõi tính ổn định của quy trình sản xuất.

Tế bào chứng: Tế bào chứng của mỗi loạt nuôi cấy tế bào sản xuất phải đạt yêu cầu về thử nghiệm nhận dạng và không có mặt các tác nhân ngoại lai.

Tình chế và bất hoạt

Mẻ gặt virus có thể được cô đặc và tinh chế bằng các phương pháp phù hợp; mỗi mẻ gặt virus được bất hoạt bằng phương pháp đã được thẩm định tại một giai đoạn ấn định của quy trình sản xuất. Phương pháp bất hoạt phải đảm bảo virus đại bị bất hoạt hoàn toàn mà không làm mất đi hoạt tính sinh miễn dịch của nó. Nếu sử dụng beta-propiolacton để bất hoạt, nồng độ không được vượt quá 1:3500.

Một hỗn dịch virus sau bất hoạt phải đạt được yêu cầu sau đây mới được sử dụng để sản xuất vắc xin bán thành phẩm:

An toàn đặc hiệu:

Xác định sự có mặt của các virus đại còn khả năng gây nhiễm trong các mẫu sau khi bất hoạt bằng thử nghiệm an toàn đặc hiệu trên chuột nhắt trắng. Chuột phải khoẻ mạnh và tăng cân bình thường sau thời gian theo dõi 14 ngày.

Động vật thí nghiệm: Sử dụng ít nhất 10 chuột nhắt trắng có khối lượng từ 11 g đến 13 g. Lựa chọn những chuột khoẻ mạnh, không có biểu hiện bệnh lý và tăng cân bình thường trong thời gian cách ly ít nhất là 5 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm.

Cách tiến hành: Mẫu thử nghiệm không pha loãng được tiêm vào não với liều 0,03 ml cho mỗi chuột.

Theo dõi và đọc kết quả: Toàn bộ chuột thử nghiệm phải được theo dõi và cân hàng ngày trước và sau khi tiêm. Thời gian theo dõi sau tiêm là 14 ngày. Trong suốt thời gian theo dõi, chuột phải khoẻ mạnh, tăng cân và không được có các triệu chứng bất thường.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được sản xuất từ một hay nhiều hỗn dịch virus đại bất hoạt. Chất ổn định được phép sử dụng có thể được thêm vào để duy trì hoạt tính của sản phẩm trong và sau khi đông khô.

Một loạt vắc xin bán thành phẩm cuối cùng phải đạt được các yêu cầu sau đây mới được sử dụng để sản xuất vắc xin thành phẩm.

Hàm lượng glycoprotein

Hàm lượng glycoprotein được xác định bằng phương pháp hóa miễn dịch phù hợp như thử nghiệm khuếch tán miễn dịch đơn, kỹ thuật ELISA hoặc thử nghiệm gắn kháng thể. Hàm lượng glycoprotein nằm trong giới hạn cho phép tùy thuộc vào từng nhà sản xuất.

Vô trùng

Đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Vắc xin thành phẩm được đóng vào các lọ vô trùng và được đông khô để duy trì tính ổn định của vắc xin. Lọ vắc xin được đóng chặt để tránh nhiễm khuẩn và hơi ẩm.

Một loạt vắc xin thành phẩm phải đạt được các yêu cầu dưới đây mới được xuất xưởng:

Nhận dạng

Trong vắc xin phải chứa kháng nguyên của virus đại và được xác định bằng phương pháp hóa miễn dịch phù hợp với kháng thể đặc hiệu, tốt nhất là kháng thể đơn dòng.

An toàn đặc hiệu

Xác định sự có mặt của các virus đại còn khả năng gây nhiễm trong các mẫu sau khi bất hoạt bằng thử nghiệm an toàn đặc hiệu trên chuột nhắt trắng. Trong trường hợp thử nghiệm an toàn đặc hiệu trên chuột đã được thực hiện với hỗn dịch virus bất hoạt đạt yêu cầu thì có thể không cần tiến hành lại thử nghiệm này đối với vắc xin thành phẩm.

Vô trùng

Vắc xin đại phải đạt được yêu cầu về vô trùng (Phụ lục 15.7).

Chất gây sốt

Vắc xin phải đạt yêu cầu về chất gây sốt. Thử nghiệm được thực hiện bằng cách tiêm cho mỗi thỏ 1 liều đơn vắc xin dùng cho người và được pha loãng 10 lần (Phụ lục 15.12).

An toàn chung

Vắc xin phải đạt yêu cầu về an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt. Chuột khoẻ mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11)

Độ ẩm tồn dư

Phụ lục 15.35.

Công hiệu

Phải kiểm tra công hiệu đối với tất cả các lô vắc xin thành phẩm. Thực hiện theo phương pháp N.I.H. (Phụ lục 15.31).

Thử nghiệm có giá trị khi:

ED₅₀ của vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử đều nằm trong khoảng giữa liều tiêm lớn nhất và nhỏ nhất.

Phân tích thống kê cho thấy đạt yêu cầu về tuyến tính và song song.

Khoảng tin cậy P = 95 % công hiệu của mẫu thử nằm trong giới hạn từ 25 % đến 400 %.

Tiêu chuẩn: LD₅₀ của chủng thử thách (CVS - Challenge virus strain) phải nằm trong khoảng 10 - 100 LD₅₀/0,03 ml.

Công hiệu của vắc xin phải không nhỏ hơn 2,5 IU/liều tiêm cho người.

Sản xuất chủng virus thử thách (CVS): Tiêm chủng CVS vào não chuột nhắt trắng, khối lượng từ 11 g đến 13 g, khi chuột có biểu hiện của nhiễm virus dại, nhưng trước khi chuột bị chết, tiến hành giết chuột và gặt não. Não chuột được nghiền nát và pha trong dung dịch phù hợp để có nồng độ cuối là 20 %. Chia hỗn dịch này thành các phần nhỏ trong các lọ, đậy kín và bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 60 °C (-60 °C).

Chuẩn độ chủng CVS: Làm tan băng 1 lọ chủng thử thách, pha loãng chủng ở các độ pha phù hợp. Mỗi độ pha của chủng CVS được tiêm vào não cho 10 chuột với liều 0,03 ml/chuột. Theo dõi chuột trong vòng 14 ngày sau tiêm. Tính LD₅₀ của chủng CVS theo công thức Reed - Muench dựa vào số chuột liệt hoặc chết, chỉ những chuột liệt hoặc chết sau ngày thứ 5 mới được tính.

Chất hấp phụ

Nếu chất hấp phụ được thêm vào vắc xin thì hàm lượng chất hấp phụ được xác định bằng phương pháp đã được phê duyệt.

Tiêu chuẩn: Theo quy định hiện hành.

Chất bảo quản

Nếu chất bảo quản được thêm vào vắc xin thì hàm lượng chất bảo quản được xác định bằng phương pháp đã được phê duyệt.

Tiêu chuẩn: Theo quy định hiện hành.

Đóng gói, bảo quản

Đóng gói: Bao gồm 1 lọ vắc xin đông khô và 1 lọ nước hồi chính.

Vắc xin đại tế bào được đóng dạng đông khô trong lọ thủy tinh trung tính.

Bảo quản: Vắc xin đại phải được bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

Chỉ định, liều dùng

Dùng bơm tiêm hút toàn bộ nước hồi chính cho vào lọ vắc xin đông khô, lắc thật kỹ cho đến khi tan hoàn toàn. Vắc xin phải được tiêm ngay sau khi đã hồi chính, bơm kim tiêm phải được hủy bỏ ngay sau khi tiêm vắc xin.

Tiêm bắp vùng cơ delta, đối với trẻ em nên tiêm bắp đùi tốt hơn. Không tiêm vào những vùng có nhiều tổ chức lỏng lẻo dưới da.

Lịch tiêm vắc xin đại phụ thuộc vào từng đối tượng khác nhau. Có 3 nhóm đối tượng chính:

Tiêm dự phòng các đối tượng có nguy cơ cao (tiếp xúc với virus dại):

Tiêm 3 mũi cơ bản vào các ngày: 0, 7, 28.

Mũi tăng cường: sau 1 năm.

Cứ sau 5 năm, nhắc lại 1 lần.

Lịch tiêm vào ngày 28 có thể thay thế bằng lịch tiêm vào ngày 21.

Tiêm điều trị các đối tượng nghi ngờ hoặc chắc chắn bị nhiễm virus dại (chó cắn):

Nếu đối tượng bị cắn chưa có miễn dịch với virus dại:

Liều tiêm 0,5 ml, giống nhau giữa người lớn và trẻ em.

Tiêm 5 mũi: lịch tiêm vào các ngày 0, 3, 7, 14, 28.

Trong trường hợp có nhiều vết cắn hoặc cào xước, nhiều nước bọt... thì phải tiêm thêm globulin miễn dịch dại ngay vào ngày 0 với liều lượng:

Globulin miễn dịch dại người: 20 IU/kg cân nặng. Globulin miễn dịch dại ngựa: 40 IU/kg cân nặng.

Vắc xin nên tiêm vào các vị trí đối diện với vị trí tiêm globulin miễn dịch.

Trong các trường hợp nặng, ví dụ do vết cắn rộng hoặc vết cắn gần thân kinh trung ương, thì tùy từng trường hợp cụ thể có thể tiêm liền 2 mũi vắc xin trong cùng một ngày 0.

Nếu đối tượng bị cắn đã có miễn dịch với virus dại: Trường hợp đã tiêm vắc xin trong vòng 5 năm: Tiêm tiếp 2 mũi vắc xin vào các ngày 0, 3.

Trường hợp đã tiêm vắc xin trên 5 năm hoặc tiêm nhưng không đầy đủ liệu trình: Nên áp dụng liệu trình tiêm giống như các đối tượng chưa có miễn dịch với virus dại.

VẮC XIN *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* TYP b CỘNG HỢP

Vaccinum haemophili stirpis b coniugatum

Vắc xin *Haemophilus influenzae* týp b (Hib) cộng hợp là một chế phẩm được tinh chế từ vỏ polysaccharid của vi khuẩn *H. influenzae* týp b, liên kết cộng hóa trị với protein mang (carrier protein).

Vỏ polysaccharid của Hib là một chuỗi polymer mạch thẳng gồm các đơn vị lặp lại của 3-β-D-ribofuranosyl (1→1)-D-ribitol-5-phosphat (PRP).

Protein mang là giải độc tố bạch hầu hoặc giải độc tố uốn ván hoặc độc tố bạch hầu của chủng đột biến đã mất tính độc (CRM197), hoặc phức hợp protein màng ngoài của vi khuẩn *Neisseria meningitidis* nhóm B.

Sản xuất

Chủng sản xuất

Chủng *H. influenzae* týp b dùng để sản xuất vắc xin *H. influenzae* týp b cộng hợp phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận. Chủng sản xuất phải có vỏ polysaccharid đặc hiệu và sản sinh với sản lượng ổn định trong quá trình sản xuất, có đáp ứng miễn dịch và an toàn khi sử dụng cho người.

Chỉ có những chủng đạt các đặc tính như sau mới có thể xem xét để sản xuất vắc xin: Trong môi trường nuôi cấy thích hợp phải có hình dạng đặc trưng của *H. influenzae*: trực khuẩn nhỏ, hiếu khí, Gram âm, không di động, không sinh nha bào, không làm tan máu, lên men đường glucose, không lên men đường lactose, sucrose, manose và phản ứng dương tính với catalase và indole.