

như đã đăng ký và ghi trên nhãn. Vắc xin DTWP hấp phụ phải được bảo quản sao cho không bị đông băng.

Hạn dùng của vắc xin phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận và cố định, dựa vào các số liệu nghiên cứu tính ổn định của vắc xin và không được quá 2,5 năm tính từ cuối thử nghiệm kiểm tra công hiệu (tính từ ngày tiêm miễn dịch trên động vật thí nghiệm).

Nhãn

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

VẮC XIN PHỐI HỢP BẠCH HẦU, UỐN VÁN, HO GÀ VÔ BÀO (DTaP) HẤP PHỤ

Vaccinum diphtheriae, tetani et pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum

Vắc xin bạch hầu, ho gà vô bào, uốn ván hấp phụ là một hỗn hợp bao gồm các kháng nguyên có khả năng bảo vệ được chế tạo từ giải độc tố bạch hầu, uốn ván và từng thành phần tinh khiết có tính kháng nguyên của vi khuẩn ho gà (*Bordetella pertussis*) được hấp phụ trên muối nhôm như nhôm hydroxyd hoặc nhôm phosphat hydrat. Khi lắc kỹ, hỗn hợp sẽ trở nên đồng nhất.

Sản xuất giải độc tố bạch hầu và giải độc tố uốn ván

Theo phần “Sản xuất giải độc tố bạch hầu” và phần “Sản xuất giải độc tố uốn ván” của chuyên luận Vắc xin phối hợp Bạch hầu, Uốn ván, Ho gà vô bào (DTaP) hấp phụ.

Sản xuất giải độc tố ho gà

Chủng sản xuất

Sử dụng chủng *Bordetella pertussis* pha I để sản xuất. Chủng *Bordetella pertussis* dùng để sản xuất vắc xin phải được tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc. Nếu sử dụng chủng *Bordetella pertussis* biến đổi ADN thì trình tự ADN đã biến đổi phải được mô tả rõ ràng, đầy đủ các đặc tính. Chủng sản xuất phải có các đặc tính như chủng gốc. Chủng có thể được bảo quản trong nitrogen lỏng hoặc đông khô.

Môi trường nuôi cấy: Không được dùng máu và các sản phẩm từ máu người trong bất kỳ môi trường nuôi cấy chủng ho gà nào để sản xuất vắc xin ho gà, kể cả giai đoạn cuối cùng. Môi trường nuôi cấy không được có bất kỳ tạp nhiễm nào. Thành phần kháng nguyên có tính bảo vệ được tinh chế bằng các phương pháp hóa học như: Cắt phân đoạn amoni sulfat, ly tâm theo gradient tỷ trọng của đường sucrose. Sau khi tinh chế, các kháng nguyên có tính bảo vệ này được giải độc bằng formaldehyd hoặc bằng phương pháp thích hợp khác để ức chế khả năng gây độc của chúng.

Kiểm tra sự thuần khiết của chủng vi khuẩn: Nuôi cấy các mẻ đơn trên môi trường thích hợp. Nhuộm Gram soi mẫu vi khuẩn từ tất cả các mẻ nuôi cấy đơn này. Nếu có bất kỳ tạp nhiễm nào, mẻ gạt đơn đó sẽ không được sử dụng vào việc pha chế bán thành phẩm và phải loại bỏ.

Vô trùng: Không phát hiện thấy nấm và tạp khuẩn (Phụ lục 15.7).

Đặc tính của các kháng nguyên

Tính ổn định của các thành phần riêng lẻ phải được thẩm định trong quá trình sản xuất theo các tiêu chuẩn dưới đây. Sau khi đã được thẩm định về tính ổn định, các thử nghiệm này không đòi hỏi phải được thực hiện ở mỗi loạt sản xuất.

Adenylat cyclase: Không được quá 500 ng/liều đơn cho người.

Độc tố tế bào khi quàn: Không được quá 2 pmol/liều đơn cho người.

Độc tố gây hoại tử da tổn đur: Tiêm trong da cho 3 chuột chửa cai sữa, mỗi chuột 0,1 ml với lượng kháng nguyên tương đương với 1 liều tiêm cho người của vắc xin. Theo dõi trong 48 h. Vắc xin được coi là đạt nếu không có phản ứng hoại tử da trên chuột.

Kiểm tra sự có mặt của độc tố ho gà (PT- pertussis toxin):

Sử dụng phương pháp *in vitro* như: Quan sát khả năng gây vón cục tế bào trứng của chuột đất vàng Trung Quốc hoặc phương pháp ngưng kết trên tế bào hồng cầu. Sử dụng các phương pháp *in vivo* như: Xác định sự hoạt động của yếu tố làm tăng lympho bào, yếu tố nhạy cảm với histamin, hoặc yếu tố làm tăng tiết insulin.

Tiêu chuẩn: Độc tố chỉ ra có hoạt tính sinh học của ADP-ribosyl khi sử dụng transducin như chất hấp phụ.

Kiểm tra sự có mặt của yếu tố gây ngưng kết hồng cầu dạng sợi: Sử dụng phương pháp ngưng kết trên tế bào hồng cầu hoặc phương pháp ức chế ngưng kết.

Tiêu chuẩn: Ngưng kết hoặc ức chế ngưng kết với kháng thể đặc hiệu.

Pertactin, fimbrial-2, fimbrial-3: Sử dụng phương pháp miễn dịch thích hợp.

Tiêu chuẩn: Có phản ứng với kháng thể đặc hiệu.

Giải độc tố ho gà: Xem xét khả năng tạo kháng thể của chuột có ức chế được khả năng gây độc của độc tố ho gà hay không.

Tiêu chuẩn: Giải độc tố khi tiêm cho chuột thì chuột tạo được kháng thể có khả năng ức chế tính độc của độc tố ho gà.

Độ tinh khiết của các kháng nguyên

Trước giải độc: Độ tinh khiết của các kháng nguyên đơn hoặc phối hợp được xác định bằng các phương pháp thích hợp như SDS-PAGE, sắc ký lỏng hoặc bằng các phương pháp phân tích phù hợp khác. Trong trường hợp có 2 kháng nguyên trở lên cùng được tinh chế thì tỷ lệ mỗi kháng nguyên phải được xác định bằng các phương pháp thích hợp như SDS-PAGE, phương pháp sắc ký lỏng, điện di trên gel không biến tính, đo tỷ trọng... và phải chứng minh được tỷ lệ đó tạo được hiệu quả cho vắc xin trên thử nghiệm lâm sàng.

Hàm lượng nội độc tố nhỏ hơn 100 IU/liều đơn cho người. Sử dụng phương pháp tạo gel hoặc phương pháp thích hợp khác (Phụ lục 13.2).

Kiểm tra vô trùng: Đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

Giải độc: PT, FHA (Filamentous haemagglutinin), Pertactin được giải độc bằng formaldehyd theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định (thường là bằng nhiệt), đảm bảo không có sự hồi độc của giải độc tổ thành độc tổ trong quá trình bảo quản vắc xin.

Các thành phần khác như fimbrial-2 và fimbrial-3 phải được chứng minh là không liên kết với các chất độc khác.

Sau giải độc: Kiểm tra sự tồn dư của độc tố ho gà: Xác định lượng độc tố ho gà (PT) tồn dư bằng một số phương pháp có độ tin cậy cao như: Phương pháp quan sát khả năng gây vón cục tế bào trứng của chuột đất vàng Trung Quốc. Khi pha loãng vắc xin đến nồng độ thích hợp, tổng hàm lượng độc tố ho gà tồn dư từ tất cả các kháng nguyên của vi khuẩn ho gà không được vượt quá lượng giới hạn an toàn trong vắc xin. Giới hạn này được tìm qua các thử nghiệm lâm sàng.

Hàm lượng kháng nguyên: Được xác định bằng các phương pháp hóa miễn dịch, phương pháp nitơ protein (nitrogen protein) hoặc bằng các phương pháp thích hợp khác.

Tiêu chuẩn: Tỷ lệ kháng nguyên/nitrogen protein nằm trong giới hạn đã được xác định cho sản phẩm.

Vô trùng: Mỗi mẻ kháng nguyên tinh chế đều phải được kiểm tra tính vô trùng (Phụ lục 15.7).

Tiêu chuẩn: Không có nấm và vi khuẩn mọc sau 14 ngày nuôi cấy.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm

Vắc xin bán thành phẩm được pha chế và hỗn hợp bởi một lượng thích hợp của giải độc tố bạch hầu, giải độc tố uốn ván và giải độc tố ho gà đã được hấp phụ với nhôm phosphat hydrat hoặc nhôm hydroxyd, thêm tá dược và chất bảo quản với hàm lượng thích hợp sao cho vắc xin đạt tính an toàn và hiệu quả.

Hàm lượng chất giải độc tồn dư

Nếu formaldehyd được sử dụng thì hàm lượng chất này không vượt quá 0,2 g/l (Phụ lục 15.25) nếu hàm lượng glutaraldehyd tồn dư không quá 0,1 g/l.

Chất bảo quản

Xác định chất bảo quản kháng khuẩn trong vắc xin bán thành phẩm cuối cùng bằng phương pháp hóa lý hoặc phương pháp vi sinh vật. Hàm lượng chất bảo quản không được ít hơn 85 % và không được nhiều hơn 115 % của lượng chất bảo quản tiêu chuẩn cho vào vắc xin (Phụ lục 15.29).

Nếu chất kháng sinh được sử dụng thì hàm lượng chất kháng sinh không được thấp hơn lượng nhỏ nhất có hiệu quả bảo quản và không vượt quá 115 % hàm lượng ghi trên nhãn. Xác định hàm lượng chất kháng sinh theo Phụ lục 13.9.

Nhôm

Không được quá 1,25 mg/liều đơn cho người (Phụ lục 15.27).

Calci

Không được quá 1,3 mg/liều đơn cho người.

Vô trùng

Đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

Công hiệu

Tiến hành các thử nghiệm kiểm tra công hiệu bạch hầu và uốn ván theo Phụ lục 15.22 và Phụ lục 15.23.

Xác định tính sinh miễn dịch của thành phần ho gà

Phương pháp gây miễn dịch trên chuột nhắt sau đó chuẩn độ kháng thể bằng phương pháp ELISA.

Tiêu chuẩn: Nhiều phương pháp tính toán có thể được áp dụng. Trong trường hợp sử dụng phần mềm SoftMaxPro tính toán thì hàm lượng huyết thanh kháng PT không được ít hơn 38 EU/ml, hàm lượng huyết thanh kháng FHA không được ít hơn 125 EU/ml, hàm lượng huyết thanh kháng PRN không được ít hơn 9400 EU/ml.

Giới hạn tin cậy ($P = 0,95$) không dưới 50 % và không vượt quá 200 % của công hiệu tương đối với mỗi kháng nguyên của vi khuẩn ho gà.

Phân tích thống kê cho thấy độ dốc có ý nghĩa và không có độ lệch từ đường cong đáp ứng liều.

An toàn đặc hiệu

Với thành phần bạch hầu và uốn ván theo Phụ lục 15.4.

Hồi độc và sự tồn dư độc tố ho gà

Kiểm tra sự nhạy cảm của độc tố ho gà với histamin. Có hai phương pháp là phương pháp tính tỷ lệ chết 24 h sau tiêm histamin và phương pháp đo nhiệt độ chuột nhắt sau tiêm histamin. Nếu sử dụng phương pháp tính tỷ lệ chết 24 h sau tiêm histamin thì khi tiêm miễn dịch với 1 liều tiêm vắc xin cho người cho 1 chuột, không có chuột chết ở liều tiêm thử thách 8 mg/ml histamin dihydroclorid hoặc 4 mg/ml histamin base. Tổng số chuột sử dụng là 10 chuột trên một mẫu. Khi sử dụng phương pháp đo nhiệt độ chuột nhắt sau tiêm histamin thì hàm lượng độc tố PT tồn dư hoặc hồi độc không được quá 0,4 HSU/ml (HSU: histamine sensitization unit = đơn vị nhạy cảm histamin của chuột nhắt).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan

Kiểm tra hình dạng bên ngoài của vắc xin bằng mắt thường, huyền dịch vắc xin chia thành hai lớp, phần huyền dịch phía trên trong suốt, không màu hoặc vàng nhạt, lớp lắng cặn dưới đáy lọ có màu trắng xám. Nhanh chóng tạo huyền dịch đồng nhất sau khi lắc nhẹ. Không lẫn chất lạ.

Nhận dạng

Nhận dạng thành phần uốn ván, bạch hầu theo Phụ lục 15.19. Nhận dạng thành phần ho gà vô bào: Phương pháp khuếch tán miễn dịch kép. Có sự ngưng kết đặc hiệu giữa kháng nguyên ho gà trong vắc xin với kháng thể ho gà chuẩn.

Vô trùng

Đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

Nhôm

Không được quá 1,25 mg/liều đơn cho người (Phụ lục 15.27).

Calci

Không được quá 1,3 mg/liều đơn cho người.

Thimerosal

Từ 0,005 % đến 0,02 % (Phụ lục 15.29).

Formaldehyd tồn dư

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 15.25).

pH

Từ 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

An toàn chung

Thử nghiệm tiền hành trên chuột nhắt trắng và chuột lang khỏe mạnh. Tiêm vào ổ bụng cho 5 chuột nhắt trắng có cân nặng 18 - 22 g/con. Tiêm vào ổ bụng 2 chuột lang có cân nặng 250 - 350 g/con. Tiêm mỗi chuột nhắt 1 liều tiêm cho người nhưng không quá 1 ml, tiêm mỗi chuột lang tương ứng 10 liều tiêm cho người nhưng không vượt quá 5 ml. Vắc xin được coi là không có độc tính bất thường nếu tất cả động vật thí nghiệm sống khỏe mạnh và lên cân trong thời gian ít nhất 7 ngày thử nghiệm và không có dấu hiệu nhiễm độc.

Nội độc tố vi khuẩn

Hàm lượng nội độc tố nhỏ hơn 100 EU/liều đơn cho người. Sử dụng phương pháp tạo gel hoặc phương pháp thích hợp khác (Phụ lục 13.2).

Hội độc và sự tồn dư độc tố ho gà

Xem mục Kiểm định vắc xin bán thành phẩm.

Công hiệu bạch hầu, uốn ván

Tiến hành kiểm tra ở mẫu vắc xin DTaP thành phẩm khi chưa kiểm tra công hiệu trên vắc xin bán thành phẩm hoặc khi có chỉ định cần thiết (Phụ lục 15.22 và Phụ lục 15.23).

Xác định tính sinh miễn dịch của thành phần ho gà

Phương pháp gây miễn dịch trên chuột nhắt sau đó chuẩn độ kháng thể bằng phương pháp ELISA.

Tiêu chuẩn: Nhiều phương pháp tính toán có thể được áp dụng. Trong trường hợp sử dụng phần mềm SoftMaxPro tính toán thì hàm lượng huyết thanh kháng PT không được ít hơn 38 EU/ml, hàm lượng huyết thanh kháng FHA không được ít hơn 125 EU/ml, hàm lượng huyết thanh kháng PRN không được ít hơn 9400 EU/ml.

Giới hạn tin cậy (P = 0,95) không dưới 50 % và không vượt quá 200 % của công hiệu tương đối với mỗi kháng nguyên của vi khuẩn ho gà.

Phân tích thống kê cho thấy độ dốc có ý nghĩa và không có độ lệch từ đường cong đáp ứng liều.

Công hiệu của vắc xin ho gà vô bào được coi là đạt yêu cầu khi công hiệu không thấp hơn 4 IU đối với một liều đơn cho người và giới hạn dưới của khoảng tin cậy 95 % không thấp hơn 2 IU đối với một liều đơn cho người.

Bảo quản, hạn dùng

Bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C vắc xin có thể giữ công hiệu trong ít nhất 2 năm.

Nhà sản xuất phải đưa ra khuyến cáo về điều kiện bảo quản và vận chuyển vắc xin để đảm bảo rằng vắc xin đạt công hiệu theo yêu cầu cho đến khi hết hạn sử dụng như đăng ký ghi trên nhãn. Vắc xin phải được bảo quản sao cho không bị đông băng.

Hạn dùng của vắc xin phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp nhận và cố định dựa vào các số liệu nghiên cứu tính ổn định của vắc xin.

Nhãn

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

VẮC XIN BẠCH HẦU, UỐN VÁN, HO GÀ, VIÊM GAN B VÀ Hib (DTwP - HeB - Hib)

Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis, hepatitis B et haemophili stirpis b coniugatum adsorbatum

Vắc xin bạch hầu, uốn ván, ho gà, viêm gan B và Hib là một hỗn hợp các kháng nguyên hấp phụ vào tá chất nhôm, gồm các giải độc tố bạch hầu, uốn ván tinh chế, vắc xin ho gà toàn tế bào, kháng nguyên bề mặt (HBsAg) virus viêm gan B tái tổ hợp và kháng nguyên Hib cộng hợp. Tá chất là nhôm.

Sản xuất giải độc tố bạch cầu

Vắc xin bạch hầu được sản xuất dựa vào hệ thống chủng gốc. Chủng *Corynebacterium diphtheriae* dùng cho sản xuất phải tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc và được nuôi cấy trên môi trường lòng Lingood. Cuối giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những loạt nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố bạch hầu (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông. Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và tinh chế theo phương pháp thích hợp.

Giải độc tố bạch hầu tinh chế được kiểm tra vô trùng, tính độc đặc hiệu, tính hội độc, độ tinh sạch của kháng nguyên trước khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô trùng

Tiến hành thử nghiệm vô trùng trên môi trường canh thang Thioglycolat và Soybean Casein với 10 ml mẫu giải độc tố bạch hầu tinh chế cho mỗi môi trường.

Cách tiến hành và tiêu chuẩn chấp thuận theo Phụ lục 15.7.

An toàn đặc hiệu

Tiêm dưới da ít nhất 500 Lf của giải độc tố bạch hầu tinh chế chứa trong thể tích 1 ml vào mỗi trong số 5 chuột lang khối lượng 250 g/con đến 350 g/con, khỏe mạnh, chưa sử dụng vào bất cứ mục đích gì trước đó. Theo dõi chuột trong vòng 42 ngày sau tiêm, nếu thấy chuột có những triệu chứng bất thường hay bị chết do độc tố bạch hầu thì lô giải độc tố bạch hầu tinh chế này không đạt về tính an toàn