

Nhận dạng

Virus vắc xin được đóng trong lọ vắc xin thành phẩm phải được nhận dạng là virus rota, đối với vắc xin rota đa giá thì cần nhận dạng mỗi týp virus bằng phương pháp phù hợp. Các phương pháp như trung hòa tạo đám hoại tử, kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang phù hợp cho nhận dạng sự có mặt của virus rota khi sử dụng kháng huyết thanh đa dòng đặc hiệu. Kỹ thuật RT-PCR cũng có thể được sử dụng.

Vô trùng

Đáp ứng yêu cầu về vô trùng (Phụ lục 15.7).

pH

pH của loạt vắc xin thành phẩm được kiểm tra sau khi hỗn các lọ vắc xin thành phẩm đạt được giới hạn thể tích phù hợp để đo pH. Trong trường hợp là vắc xin đông khô, pH được đo sau khi hồi chỉnh vắc xin với dung dịch hồi chỉnh kèm theo. pH của vắc xin phải nằm trong khoảng giới hạn đã đăng ký.

Độ ẩm

Độ ẩm tồn dư của vắc xin dưới dạng đông khô không được quá 3,0 % (Phụ lục 15.35).

Công hiệu

Hiệu giá của vắc xin thành phẩm được xác định riêng biệt đối với tối thiểu 3 lọ vắc xin.

Phương pháp định lượng qPCR phù hợp được sử dụng, tính theo đơn vị IU/ml hoặc phương pháp khác đã được cơ quan quản lý phê duyệt.

Sử dụng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang hoặc kỹ thuật tạo đám hoại tử trên tế bào MA-104, hoặc Vero hoặc những tế bào nhạy cảm khác để xác định hiệu giá. Kết quả được tính bằng FFU/liều hoặc PFU/ml. Hiệu giá của vắc xin cũng có thể được xác định bằng phương pháp vi lượng trên tế bào thích hợp, kết quả được tính theo đơn vị CCID₅₀/liều.

Vắc xin đông khô được hồi chỉnh với dung dịch pha loãng kèm theo để xác định hiệu giá virus.

Một giới hạn về hiệu giá đối với liều vắc xin sử dụng cần được nhà sản xuất thiết lập sau khi đã được chứng minh qua thử nghiệm lâm sàng về tính an toàn và đáp ứng miễn dịch của vắc xin trên người. Các chỉ tiêu kỹ thuật về hiệu giá tối thiểu đối với 1 liều sử dụng cần được xác định cụ thể và được sự chấp thuận của cơ quan thẩm quyền quốc gia.

Công hiệu của vắc xin phải đạt yêu cầu tối thiểu theo hàm lượng ghi trên nhãn.

Thử nghiệm tính ổn định nhiệt

Xác định hiệu giá virus trên liều sử dụng khi để vắc xin ở nhiệt độ bảo quản theo quy định và để vắc xin ở nhiệt độ tăng cường. Mức độ hiệu giá giảm tối đa cho phép trong quá trình thử nghiệm tính ổn định nhiệt được xác nhận dựa trên kinh nghiệm của nhà sản xuất đã đăng ký và được phê chuẩn bởi cơ quan có thẩm quyền. Đối với vắc xin đa giá, nếu không có sự khác biệt có ý nghĩa về hiệu giá giữa các serotype thì mức độ giảm hiệu giá có thể căn cứ vào hiệu giá tổng.

Khuyến cáo: Đối với vắc xin đông khô thì hiệu giá của vắc xin để ở 37 °C trong 7 ngày không được giảm quá 0,5 lg CCID₅₀ so với vắc xin bảo quản ở 2 °C đến 8 °C, đồng thời phải đạt điều kiện hiệu giá vắc xin ổn định nhiệt phải đạt tối thiểu 10^{6,6} CCID₅₀/liều.

Có thể sử dụng đơn vị PFU, FFU.

Bảo quản

Vắc xin được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.

Hạn dùng

Theo sự chấp thuận của cơ quan kiểm định quốc gia.

Nhãn

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

Nước hồi chỉnh

Nước hồi chỉnh được sản xuất theo tiêu chuẩn GMP được cơ quan kiểm định quốc gia phê duyệt.

VẮC XIN RUBELLA

Vaccinum rubellae vivum

Vắc xin rubella là một chế phẩm chứa virus rubella sống, giảm độc lực, dạng đông khô; được sản xuất từ các virus phát triển trên dòng tế bào thích hợp.

Hoàn nguyên vắc xin ngay trước khi sử dụng bằng nước hồi chỉnh như đã ghi trên nhãn, được dung dịch trong, có thể có màu nếu có chất chỉ thị pH.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu dưới đây:

Sản xuất

Chủng sản xuất

Sản xuất được dựa trên hệ thống chủng gốc virus giảm độc lực, được phê duyệt bởi Cơ quan Kiểm định quốc gia. Chủng virus rubella dùng để sản xuất vắc xin sẽ phải được xác định bằng hồ sơ ghi chép lịch sử chủng bao gồm những thông tin về chủng gốc và các đời nhân lên tiếp theo của chủng này. Chủng sản xuất được bảo quản ở dạng đông khô trong điều kiện nhiệt độ dưới âm 20 °C (-20 °C); nếu không đông khô phải được bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 60 °C (-60 °C) và được giám sát chặt chẽ nhiệt độ trong quá trình bảo quản.

Chủng sản xuất phải tuân thủ các điều kiện dưới đây:

Nhận dạng:

Các lô chủng gốc và chủng sản xuất phải được nhận dạng virus rubella bằng phương pháp trung hòa với kháng huyết thanh đặc hiệu rubella trên nuôi cấy tế bào hoặc nhận dạng bằng phương pháp RT-PCR.

Hàm lượng virus:

Hàm lượng virus của các lô chủng gốc và chủng sản xuất phải được kiểm tra để đảm bảo tính ổn định của sản xuất.

Các yếu tố ngoại lai:

Lô chủng sản xuất phải tuân thủ các yêu cầu đối với đối với các lô chủng sản xuất vắc xin, không được có các yếu tố ngoại lai.

Độc lực:

Lô chủng sản xuất phải tuân thủ yêu cầu về thử nghiệm kiểm tra độc lực của các vắc xin sống. Khi *Macaca* và *Cercopithecus* phù hợp với thử nghiệm này.

Tế bào sản xuất

Sử dụng ngân hàng tế bào sản xuất hoặc từ tế bào phôi có nguồn gốc từ trứng không có tác nhân gây bệnh (SPF) và được Cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Huyết thanh dùng trong môi trường nuôi cấy tế bào

Huyết thanh dùng để nhân tế bào dùng cho sản xuất vắc xin rubella phải được kiểm tra và chứng minh là đạt yêu cầu vô trùng (không có vi khuẩn, nấm và *Mycoplasma* và chứng minh không chứa virus).

Huyết thanh người không được sử dụng trong tất cả các nuôi cấy của quá trình sản xuất vắc xin.

Quy trình sản xuất và kiểm định sản xuất

Chủng virus rubella được phát triển trên tế bào phôi hoặc tế bào từ ngân hàng tế bào sử dụng môi trường thích hợp. Hỗn dịch virus được gặt, hỗn, bổ sung chất bảo quản, lọc, pha loãng, đóng lọ và đông khô theo quy trình đã được phê chuẩn. Trong quá trình sản xuất, tất cả các khâu đều được kiểm tra từ nguyên liệu nguồn (trứng, môi trường sử dụng cho sản xuất, huyết thanh bào thai bê, trypsin tách tế bào,...); tế bào sử dụng cho sản xuất, mẻ gặt đơn, loạt hỗn dịch virus hỗn, vắc xin bán thành phẩm trung gian, vắc xin bán thành phẩm cuối cùng, vắc xin thành phẩm được kiểm tra tác nhân ngoại lai, kiểm tra hiệu giá virus, kiểm tra tính vô trùng... Tất cả quá trình sản xuất ngân hàng tế bào và các nuôi cấy tế bào tiếp theo sau đó phục vụ cho quá trình sản xuất vắc xin rubella đều phải được tiến hành trong các điều kiện vô trùng, trong khu vực không lưu giữ các dòng tế bào khác. Huyết thanh động vật có thể được sử dụng trong môi trường nuôi cấy của quá trình sản xuất. Huyết thanh và trypsin dùng để pha chế huyền dịch tế bào và pha môi trường nuôi cấy sẽ phải cho thấy không chứa các yếu tố ngoại lai. Môi trường nuôi cấy tế bào có thể chứa một chỉ thị pH như đỏ phenol và lượng kháng sinh nhỏ nhất có tác dụng.

Kiểm định mẻ gặt đơn

Mỗi mẻ gặt đơn phải đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được sử dụng để pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng:

Nhận dạng

Mẻ gặt đơn chứa virus rubella sẽ phải được nhận dạng virus bằng phương pháp trung hòa huyết thanh trên môi trường nuôi cấy có sử dụng kháng thể đặc hiệu hoặc bằng phương pháp PCR.

Nồng độ virus

Nồng độ virus trong mỗi mẻ gặt đơn phải được xác định để giám sát tính ổn định của sản xuất và từ đó xác định độ pha được dùng cho vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Các yếu tố ngoại lai

Mỗi mẻ gặt đơn đều phải kiểm tra để xác định không chứa các yếu tố ngoại lai.

Kiểm tra tế bào và trứng

Nếu sử dụng tế bào lưỡng bội người cho sản xuất, phải kiểm tra tế bào chứng để nhận dạng; các tế bào chứng và trứng chứng phải được kiểm tra để xác định không chứa các yếu tố ngoại lai.

Vắc xin rubella sống giảm độc lực có thể được điều chế với chất ổn định thích hợp và đông khô ở dạng vắc xin đơn hoặc phối hợp với vắc xin sởi và quai bị sống giảm độc lực.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Các mẻ gặt đơn vắc xin đạt các yêu cầu nêu trên sẽ được hỗn lại và lọc để loại bỏ tế bào. Thêm chất ổn định thích hợp và các mẻ gặt đã được hỗn sẽ được pha thành độ pha loãng thích hợp.

Mỗi lô vắc xin bán thành phẩm cuối cùng sẽ phải đạt các yêu cầu dưới đây mới được tiếp tục tiến hành các bước tiếp theo để sản xuất vắc xin thành phẩm.

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

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng

Sử dụng các phương pháp đã được cơ quan quản lý phê duyệt.

Nhận dạng bằng phương pháp trung hòa vi lượng

Dùng kháng thể đặc hiệu trung hòa vắc xin rubella. Hỗn dịch virus rubella - kháng thể sau phản ứng, được dùng để gây nhiễm trên tế bào RK-13 một lớp. Thử nghiệm luôn có chứng âm và chứng dương đi kèm, đọc kết quả sau 2 tuần.

Tiến hành:

Ngày thứ nhất:

Nuôi cấy tế bào trên phiến 6 giếng hoặc 24 giếng.

Lượng tế bào: 1.10^5 tế bào/ml đến $1,5.10^5$ tế bào/ml hỗn dịch.

Ngày thứ 2:

Pha kháng thể theo các độ pha loãng khác nhau. Hoàn nguyên vắc xin bằng nước hồi chính kèm theo.

Trộn kháng nguyên, kháng thể theo tỉ lệ thể tích 1 : 1 (phản ứng trung hòa).

Ủ hỗn dịch đã trung hòa (có kháng nguyên và kháng thể) và hỗn dịch không trung hòa (chỉ có vắc xin ở các nồng độ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} ; và chỉ có kháng thể theo độ pha phù hợp) trong chu trình nhiệt thích hợp.

Khuyến cáo: Có thể dùng chu trình nhiệt như sau: đặt vào bể ổn định nhiệt $37\text{ }^{\circ}\text{C}/30\text{ min}$, $23\text{ }^{\circ}\text{C}/30\text{ min}$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong 18 h trở lên ($\geq 18\text{ h}$).

Ngày thứ 3:

Gây nhiễm trên tế bào: Nhỏ hỗn dịch đã trung hòa và không trung hòa vào các giếng trên phiến tế bào đã chuẩn bị trước. Phải có các giếng chứng tế bào, chứng vắc xin theo các nồng độ, chứng kháng thể theo các độ pha kèm theo.

Đặt vào tủ ấm $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ có 5 % CO_2 .

Theo dõi hàng ngày và đọc kết quả từ ngày thứ 4 cho đến ngày thứ 7.

Thử nghiệm có giá trị khi ở giếng chứng âm tế bào vẫn phát triển bình thường; trong khi đó, có xuất hiện hủy hoại tế bào ở giếng chứng dương.

Tiêu chuẩn: Vắc xin đạt yêu cầu khi tế bào RK-13 không bị hủy hoại ở giếng chứa vắc xin, giống như mẫu chứng âm.

Nhận dạng bằng phương pháp RT-PCR

Dùng môi đặc hiệu cho virus rubella.

Có thông tin chi tiết về đoạn môi này.

Thử nghiệm bao gồm mẫu thử và chứng âm.

Tiêu chuẩn: Vắc xin đạt yêu cầu khi sản phẩm RT-PCR có băng kích cỡ (size) đúng.

Khuyến cáo:

Có thể dùng cặp môi như sau:

Môi xuôi: 5'-CAA CAC GCC GCA CGG ACA AC-3'.

Môi ngược: 5'-CCA CAA GCC GCG AGC AGT CA-3'.

Kích thước: 185 bp.

Chu trình nhiệt/thời gian:

50 °C/30 min;

95 °C/thời gian (theo hướng dẫn của bộ kit RT-PCR);

94 °C/1 min

60 °C/1 min

72 °C/1 min

} 35 chu kỳ;

72 °C/10 min

4 °C/đến khi điện đi.

Hiệu giá vắc xin

Sử dụng phương pháp đã được cơ quan quản lý phê duyệt.

Các đơn vị chấp thuận là CCID₅₀, PFU,...

Tiêu chuẩn:

Hiệu giá virus của vắc xin rubella cần kiểm tra không được nhỏ hơn lượng ghi trên nhãn. Hiệu giá virus tối thiểu ghi trên nhãn không được nhỏ hơn 3,0 lg CCID₅₀ hoặc PFU đối với một liều đơn cho người.

Tính ổn định nhiệt

Thử nghiệm tính ổn định của vắc xin rubella được tiến hành bằng cách so sánh hiệu giá của mẫu vắc xin cần kiểm tra được ủ ở 37 °C với mẫu được ủ ở (5 ± 3) °C, trong 7 ngày.

Tiêu chuẩn: Tính ổn định nhiệt của vắc xin đạt yêu cầu khi hiệu giá virus của vắc xin mẫu được ủ ở 37 °C không giảm quá 1lg so với vắc xin mẫu ủ ở (5 ± 3) °C. Hiệu giá thấp nhất không được nhỏ hơn lg10³ CCID₅₀/0,5 ml hoặc PFU/0,5 ml (1 liều đơn dùng cho người).

An toàn chung (Phụ lục 15.11)

Vắc xin rubella phải an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Chuột phải khỏe mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi.

Vô trùng

Đạt yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7).

Độ ẩm

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 15.35).

Cảm quan

Đạt yêu cầu theo đăng ký của nhà sản xuất.

Mycoplasma

Không được có *Mycoplasma* (Phụ lục 15.36).

Khuyến cáo: Có thể dùng phương pháp nuôi cấy trực tiếp hoặc PCR để phát hiện *Mycoplasma* trong vắc xin.

Albumin tồn dư

Nhỏ hơn 50 ng/liều đơn dùng cho người. Xác định bằng phương pháp hóa miễn dịch thích hợp.

Bảo quản

Bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

Nhãn

Theo quy định hiện hành và cần có các thông tin như sau:

Tên chủng virus được sử dụng sản xuất;

Loại tế bào sử dụng cho sản xuất;

Nồng độ thấp nhất của virus;

Lượng kháng sinh còn tồn dư trong vắc xin, các chất bảo quản và liều lượng của chúng (nếu có);

Các yếu tố phải tránh tiếp xúc trực tiếp với vắc xin.

Chú ý: Vắc xin quai bị nhạy cảm với ánh sáng, vì vậy phải bảo quản tránh ánh sáng đối với vắc xin đông khô và vắc xin đã hoàn nguyên.

Nên tiêm vắc xin trước khi dự định có thai ít nhất hai tháng. Không nên tiêm vắc xin đối với phụ nữ mang thai.

Cách dùng, liều dùng

Tiêm dưới da, liều 0,5 ml.

VẮC XIN SỞI

Vaccinum morbillorum vivum

Vắc xin sởi là chế phẩm chứa virus sởi sống giảm độc lực, đông khô, được phát triển trên nuôi cấy tế bào thích hợp. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu sau đây.

Sản xuất

Chủng sản xuất: Sản xuất được dựa trên hệ thống chủng giống gốc (Master seed) virus giảm độc lực được phê chuẩn bởi Viện Kiểm định quốc gia, chủng được bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 60 °C (-60 °C) ở dạng không đông khô và dưới âm 20 °C (-20 °C) ở dạng đông khô.

Tế bào sản xuất: Sử dụng ngân hàng tế bào sản xuất hoặc từ tế bào phôi gà có nguồn gốc từ trứng gà không có tác nhân gây bệnh (SPF). Tế bào dùng cho sản xuất vắc xin phải đạt các yêu cầu theo quy định của Tổ chức Y tế Thế giới.

Quy trình sản xuất và kiểm định sản xuất: Chủng virus sởi được phát triển trên tế bào phôi gà hoặc tế bào từ ngân hàng tế bào sử dụng môi trường phù hợp. Hỗn dịch virus được gặt, hện, bổ sung chất bảo quản, lọc, pha loãng và đông khô theo quy trình đã được phê chuẩn. Trong quá trình sản xuất, tất cả các khâu đều được kiểm tra từ nguyên liệu nguồn (trứng gà, môi trường sử dụng cho sản xuất, huyết thanh bê, trypsin tách tế bào...); tế bào sử dụng cho sản xuất, vắc xin bán thành phẩm, vắc xin bán thành phẩm cuối cùng, vắc xin thành phẩm.