

DUỢC ĐIỀN VIỆT NAM VI

Đối với vắc xin là chế phẩm đông khô: Tiến hành đo pH sau khi hoàn nguyên với dung dịch thích hợp; giá trị pH nằm trong khoảng mà cho thấy là an toàn và hiệu quả trong thử nghiệm lâm sàng và nghiên cứu tính ổn định (Phụ lục 15.33).

Cảm quan: Quan sát bằng mắt thường vắc xin không có dấu hiệu bất thường: lỏng nút, nắp, hàn không đạt yêu cầu, nứt, vỡ, không có vật thể lạ...

Đóng gói

Phải tuân thủ theo GMP và các quy định hiện hành.

Bảo quản, hạn dùng

Trong bao bì kín, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Các tuyên bố về hạn sử dụng, nhiệt độ bảo quản sẽ phải dựa trên kết quả nghiên cứu về tính ổn định của vắc xin và phải được cơ quan có thẩm quyền phê duyệt..

Nhãn

Những thông tin ghi trên nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng các quy định hiện hành và đặc biệt phải ghi đủ các thông tin về hàm lượng của từng polysaccharid; tên và hàm lượng của protein mang của 1 liều sử dụng cho người; tên, hàm lượng của chất hấp phụ; điều kiện sử dụng, bảo quản vắc xin (lắc trước khi dùng, không được để đông băng).

VẮC XIN TÁI TỔ HỢP PHÒNG PAPILLOMA VIRUS Ở NGƯỜI

Vaccinum papillomaviri humani (ADNr)

Vắc xin tái tổ hợp phòng papilloma virus ở người là chế phẩm vô trùng chứa các hạt giống virus (VLPs) nhưng không gây bệnh; có độ tinh khiết cao, chứa protein capsid chính (L1) của một hoặc nhiều týp HPV (HPV- Human Papilloma Virus).

Các kháng nguyên HPV được điều chế theo công nghệ tái tổ hợp ADN. Tùy theo nhà sản xuất, VLPs tinh khiết có thể được hấp phụ vào tá chất dạng phối hợp nhôm hydroxyd và 3-0-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A (MPL) hoặc nhôm phosphat ngâm nước.

Sản xuất

Vắc xin HPV được sản xuất bằng cách đưa gen mã hóa protein capsid (L1) của virus vào tế bào nấm men hoặc hoặc biểu hiện trên hệ vector Baculovirus rồi nhân lên trên tế bào côn trùng, sau đó thu hoạch và tinh chế VLPs. Tính an toàn và phù hợp của hệ thống vector biểu hiện này cần được phê chuẩn của cơ quan quản lý có thẩm quyền. Việc sản xuất vắc xin HPV dựa vào hệ thống ngân hàng tế bào và chủng giống gốc. Tính an toàn và hiệu quả của vắc xin cần được chứng minh qua các kết quả nghiên cứu trên lâm sàng.

Vắc xin mẫu chuẩn: Vắc xin HPV chuẩn được lấy từ 1 lô vắc xin đối chứng hoặc một trong các lô vắc xin đã được

VẮC XIN TÁI TỔ HỢP PHÒNG PAPILLOMA VIRUS Ở NGƯỜI

nghiên cứu lâm sàng được khẳng định là an toàn và có hiệu quả bảo vệ. Vắc xin mẫu chuẩn cần phải đạt yêu cầu về tính ổn định.

Đánh giá đặc tính VLPs

Đặc tính của VLPs phải được đánh giá trên các lô trong quá trình phát triển vắc xin bao gồm cả các lô thử nghiệm quy trình sản xuất. Các kỹ thuật thường dùng để đánh giá đặc tính của VLPs bao gồm: Xác định thành phần protein bằng kỹ thuật SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis), Western Blot, hấp phụ khối, phân tích trình tự amino acid hoặc bản đồ peptid. Hình thái và mức độ kết hợp của các VLPs cũng được xác định để khẳng định các epitop có mặt trong vắc xin và là yếu tố cần thiết tạo hiệu quả cho vắc xin. Các VLPs cũng có thể được xác định thông qua kính hiển vi lực nguyên tử (atomic force microscopy), kính hiển vi điện tử truyền qua (transmission electron microscopy, TEM); tán xạ ánh sáng động {Dynamic light scattering (DLS)}, bản đồ epitop và phản ứng trung hòa với các kháng thể đơn dòng. Bên cạnh đó, các thành phần protein, lipid, acid nucleic và carbon hydrat cũng cần được xác định trong quá trình sản xuất vắc xin. Hàm lượng protein tế bào chủ tồn dư (có nguồn gốc từ tế bào côn trùng) phải nằm trong giới hạn an toàn theo quy định của cơ quan có thẩm quyền.

Ngân hàng tế bào và chủng giống gốc

Sản xuất vắc xin trên tế bào nấm men tái tổ hợp

Chỉ các ngân hàng tế bào đạt các yêu cầu về nhận dạng, độ tinh khiết, khả năng mọc và tính ổn định mới được đưa vào sản xuất vắc xin. Tính đồng nhất về gen cần được nghiên cứu đánh giá trên cả ngân hàng tế bào gốc và ngân hàng tế bào sản xuất. Cần mô tả đầy đủ các đặc tính sinh học của tế bào chủ và các vector biểu hiện.

Việc kiểm tra các đặc tính sinh học trong quá trình sản xuất nhằm thúc đẩy và kiểm soát sự biểu hiện của gen đã chèn trong tế bào vật chủ cần mô tả chi tiết, bao gồm các đặc tính di truyền, cấu trúc của tế bào chủ và cấu trúc của vector biểu hiện cũng như cấu trúc đoạn gen được tách dòng. Trình tự nucleotid của đoạn gen chèn vào và của các đoạn liền kề của vector với trình tự enzym giới hạn của vector chứa đoạn gen chèn vào phải được cung cấp. Phải cung cấp các dữ liệu ổn định của hệ thống vector biểu hiện trong ngân hàng tế bào tái tổ hợp qua các đời cấy chuyển, bảo quản.

Sản xuất vắc xin trên tế bào côn trùng/hệ thống vector biểu hiện Baculovirus

Trên tế bào côn trùng:

Chỉ ngân hàng tế bào đạt các yêu cầu về nhận dạng, độ tinh khiết, khả năng mọc, tính ổn định, các yếu tố ngoại lai, tính sinh khối u thì mới được đưa vào sản xuất. Các đặc tính này có thể được đánh giá ở các giai đoạn phù hợp trong quá trình sản xuất. Phương pháp kiểm tra là các phương pháp chuẩn trong được điền hoặc các phương pháp phù

hợp khác đã được thẩm định. Phần tác nhân ngoại lai cần đặc biệt chú ý các virus được sinh ra từ tế bào côn trùng như Arbovirus... Các virus ngoại lai của tế bào côn trùng có thể không dễ phát hiện trên nuôi cấy tế bào. Do đó, các thử nghiệm sử dụng gồm kỹ thuật khuếch đại acid nucleic và các thử nghiệm khác như kính hiển vi điện tử và kết hợp nuôi cấy.

Baculovirus tái tổ hợp: Việc sử dụng vector Baculovirus tái tổ hợp là dựa vào hệ thống chùng giống với số lần cấy chuyển xác định từ chùng virus ban đầu thành chùng gốc và chùng sản xuất. Vector biểu hiện Baculovirus tái tổ hợp chứa chuỗi mã hóa của kháng nguyên L1 của HPV. Sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử kết hợp với một số thử nghiệm khác để xác định các phân đoạn của cấu trúc biểu hiện trong protein tái tổ hợp tinh chế và khẳng định chất lượng cũng như tính ổn định của kháng nguyên L1. Baculovirus tái tổ hợp phải được theo dõi trong quá trình sản xuất vắc xin bao gồm các thông tin như nguồn gốc gen, nhận dạng, cấu trúc, cấu tạo và đặc tính gen. Chùng gốc Baculovirus tái tổ hợp được sản xuất với số lượng lớn và được bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phù hợp.

Chỉ những chùng giống gốc nào đạt yêu cầu các thử nghiệm dưới đây mới được sử dụng để nhân giống.

Nhận dạng: Nhận dạng chùng gốc và chùng sản xuất bằng cách sử dụng một kỹ thuật phù hợp, ví dụ kỹ thuật khuếch đại gen (NAT, nucleic acid amplification techniques).

Nồng độ virus: Nồng độ virus trong chùng virus gốc và chùng sản xuất phải đảm bảo tính đồng nhất trong quá trình sản xuất.

Các tác nhân ngoại lai: Chùng virus làm việc cũng phải tuân thủ các tiêu chuẩn như chùng virus giống gốc và tế bào chứng. Các yếu tố ngoại lai cần chú ý là Spiroplasma và virus sinh sản trên côn trùng đặc biệt là những virus sinh sản trên côn trùng có khả năng gây bệnh cho người (ví dụ: Arbovirus).

Nuôi cấy và thu hoạch virus

Quá trình nuôi cấy tế bào và chùng Baculovirus giống gốc đều phải được thực hiện trong điều kiện vô trùng tại khu vực không có bất cứ loại tế bào nào khác đang được nuôi cấy.

Nếu một dòng tế bào côn trùng/chuyển gen bằng baculovirus vector đã được chứng minh sự phù hợp và cho phép dùng làm nguyên liệu sản xuất, thì môi trường nuôi cấy ở giai đoạn trung gian có chứa virus phải đáp ứng 5 thử nghiệm sau có thể được dùng để nhân virus.

Nhận dạng

Nhận dạng virus bằng cách nhận dạng từng týp HPV và sử dụng thử nghiệm miễn dịch với các kháng thể đặc hiệu hoặc các kỹ thuật sinh học phân tử như kỹ thuật NAT.

Vô trùng

Mỗi môi trường nuôi cấy trung gian và chùng virus đều phải được kiểm tra và đạt yêu cầu về vô trùng (Phụ lục 15.7). Kiểm tra với 10 ml cho mỗi môi trường.

Nồng độ virus

Nồng độ virus trong mỗi môi trường nuôi cấy trung gian có chứa virus được xác định bằng các thử nghiệm phù hợp như thử nghiệm tạo đám hoại tử hoặc khuếch đại gen, mục đích để đảm bảo tính ổn định trong quá trình sản xuất.

Các yếu tố ngoại lai

Tất cả các môi trường nuôi cấy trung gian có chứa virus đều phải đảm bảo đạt yêu cầu khi kiểm tra về các yếu tố ngoại lai.

Tế bào chứng

Tế bào chứng được lấy ra từ các môi trường nuôi cấy trung gian chứa virus đều phải đạt yêu cầu khi tiến hành thử nghiệm nhận dạng và kiểm tra các yếu tố ngoại lai.

Sản xuất trên tế bào nấm men tái tổ hợp

Nhận dạng, độ tinh sạch vi sinh vật, khả năng duy trì plasmid và tính ổn định sản lượng được xác định ở các giai đoạn sản xuất thích hợp.

Sản xuất trong tế bào côn trùng/hệ thống vector biểu hiện Baculovirus

Có thể gom lại nhiều mẻ gạt đơn để kiểm tra. Không bổ sung kháng sinh vào giai đoạn gạt hay bất cứ giai đoạn sản xuất nào sau đó.

Mẻ gạt đơn

Một mẻ gạt đơn phải đạt các yêu cầu sau đây mới được sử dụng để tiến hành sản xuất kháng nguyên đơn giá tinh chế.

Nhận dạng

Mỗi mẻ gạt đơn phải được tiến hành thử nghiệm nhận dạng týp HPV, sử dụng thử nghiệm miễn dịch hoặc sinh học phân tử như PCR hoặc lai. Thử nghiệm nhận dạng có thể thay thế bằng một phần của thử nghiệm kiểm tra độ tinh khiết của kháng nguyên.

Vô trùng

Mỗi mẻ gạt đơn đều phải được kiểm tra và đáp ứng yêu cầu về vô trùng (Phụ lục 15.7).

Các tác nhân ngoại lai

Tất cả các mẻ gạt đơn đều phải được kiểm tra về các tác nhân ngoại lai trong suốt quá trình sản xuất trên tế bào côn trùng/hệ thống biểu hiện Baculovirus. Như đã đề cập ở trên, cần đặc biệt chú ý đến những virus sinh sản trên côn trùng trong các ngân hàng tế bào và chùng virus giống gốc có khả năng gây bệnh cho người (ví dụ: Arbovirus).

Tế bào chứng

Trong quá trình sản xuất trên tế bào côn trùng/hệ thống biểu hiện Baculovirus, tế bào chứng phải đạt yêu cầu về nhận dạng, tác nhân ngoại lai. Cần đặc biệt chú ý đến những virus sinh sản trên côn trùng trong các ngân hàng tế bào và trong chùng virus giống gốc có khả năng gây bệnh cho người.

Kháng nguyên đơn giá tinh sạch

Chỉ các kháng nguyên đơn giá tinh sạch đạt yêu cầu mới được đưa vào sản xuất vắc xin bán thành phẩm cuối cùng. Các thử nghiệm dưới đây có thể không yêu cầu nếu đã được thực hiện ở giai đoạn kháng nguyên đơn giá hấp phụ.

DƯỢC ĐIỀN VIỆT NAM VI

Protein toàn phần

Hàm lượng protein toàn phần được xác định bằng một phương pháp thử nghiệm phù hợp đã được thẩm định. Hàm lượng protein phải nằm trong tiêu chuẩn đăng ký đã được phê duyệt.

Hàm lượng kháng nguyên và nhận dạng

Hàm lượng và tính đặc hiệu của mỗi týp kháng nguyên HPV được xác định bằng phương pháp hóa miễn dịch phù hợp như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), thử nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (ELISA). Nên sử dụng kháng thể đơn dòng kháng trực tiếp với các epitop kháng nguyên hoặc kỹ thuật khuếch tán đơn. Tỷ lệ kháng nguyên/protein phải đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn cho phép đã được phê duyệt.

Độ tinh khiết kháng nguyên

Độ tinh khiết của kháng nguyên đơn giá tinh khiết được xác định bằng các phương pháp phù hợp như kỹ thuật SDS-PAGE, giới hạn xác định là 1 % các tạp chất hoặc tốt hơn so với tổng protein. Một chế phẩm chuẩn sẽ được sử dụng để đánh giá mỗi phép thử. Độ tinh khiết của protein được tính bằng tỷ lệ giữa protein L1 với tổng protein và đơn vị tính theo phần trăm. Các týp trong vắc xin HPV phải đạt yêu cầu về độ tinh khiết kháng nguyên theo tiêu chuẩn được phê duyệt.

Phần trăm monomer L1 nguyên vẹn

Thử nghiệm đánh giá độ tinh khiết của kháng nguyên cũng có mục đích đánh giá tính toàn vẹn của các monomer L1. Tỷ lệ monomer L1 là tỷ lệ giữa monomer L1 nguyên vẹn và tổng protein. Tỷ lệ này được tính theo phần trăm.

Cấu trúc và kích cỡ của VLP

Cấu trúc và kích cỡ của các VLP được xác định và theo dõi bằng phương pháp phù hợp như phương pháp phân bố ánh sáng động (dynamic light scattering). Kích cỡ của VLP phải nằm trong giới hạn cho phép đã được phê duyệt.

Thành phần

Hàm lượng các thành phần protein, lipid, acid nucleic và carbon hydrat cũng cần được xác định ở các công đoạn phù hợp.

ADN tồn dư

Không được quá 10 ng ADN tồn dư trong kháng nguyên tinh khiết tính trên mỗi liều đơn dùng cho người, được xác định bằng các phương pháp có độ nhạy cao.

Protein tế bào chủ tồn dư

Hàm lượng protein tế bào chủ tồn dư được xác định bằng các thử nghiệm phù hợp. Kết quả phải nằm trong giới hạn cho phép đã được phê duyệt.

Các hóa chất sử dụng trong quá trình phá vỡ tế bào và tinh chế

Các hóa chất sử dụng trong quá trình tinh chế và các giai đoạn khác của quá trình sản xuất được xác định bằng các thử nghiệm phù hợp. Hàm lượng của các hóa chất này phải nằm trong giới hạn cho phép được phê duyệt.

VẮC XIN TÁI TỔ HỢP PHÒNG PAPILLOMA VIRUS Ở NGƯỜI

Albumin

Nếu huyết thanh động vật được dùng trong nuôi cấy tế bào côn trùng hoặc tế bào động vật có vú để sản xuất vắc xin thì hàm lượng albumin tồn dư phải được xác định.

Vô trùng

Mỗi kháng nguyên đơn giá tinh khiết đều phải được kiểm tra và đáp ứng yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7). Kiểm tra với 10 ml cho mỗi môi trường.

Kháng nguyên đơn giá hấp phụ

Các kháng nguyên đơn giá tinh khiết được hấp phụ vào một chất hấp phụ phù hợp như muối nhôm. Chỉ những kháng nguyên đơn giá hấp phụ đạt yêu cầu các thử nghiệm dưới đây mới được sử dụng để sản xuất vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô trùng

Mỗi kháng nguyên đơn giá hấp phụ đều phải được kiểm tra và đáp ứng yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7). Kiểm tra với 10 ml cho mỗi môi trường.

Nội độc tố vi khuẩn

Mỗi kháng nguyên đơn giá hấp phụ đều phải được kiểm tra hàm lượng nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2). Kết quả kiểm tra phải nằm trong giới hạn đã được phê duyệt.

Hàm lượng kháng nguyên và nhận dạng

Mỗi týp kháng nguyên HPV được nhận dạng bằng các phương pháp hóa miễn dịch phù hợp như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), kỹ thuật ELISA. Nên sử dụng kháng thể đơn dòng kháng trực tiếp với epitop kháng nguyên. Tỷ lệ kháng nguyên/protein phải đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn đã đăng ký của nhà sản xuất.

Nồng độ chất hấp phụ

Mỗi mẫu kháng nguyên đơn giá phải được kiểm tra và xác định nồng độ chất hấp phụ. Nồng độ chất hấp phụ phải nằm trong khoảng cho phép đã được phê duyệt.

Bán thành phẩm hấp phụ 3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A

Nếu vắc xin có chứa 3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A thì chất này phải đáp ứng tiêu chuẩn chất lượng đã được phê duyệt.

Độ hấp phụ của tá chất 3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A

Hàm lượng tá chất 3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A không hấp phụ trong bán thành phẩm sau hấp phụ cần được xác định bằng một phương pháp phù hợp, như sắc ký khí. Acid béo trong dịch nổi, lượng chất bay hơi đến chất khô sau khi ly tâm.

pH

pH phải nằm trong giới hạn đã được phê duyệt (Phụ lục 15.3).

Vô trùng

Phải được kiểm tra và đáp ứng yêu cầu vô trùng (Phụ lục 15.7). Kiểm tra với 10 ml cho mỗi môi trường.

Kiểm tra vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được sản xuất từ các kháng nguyên HPV đơn giá tinh khiết hoặc kháng nguyên HPV đơn giá hấp phụ. Chất bảo quản kháng khuẩn và tá chất dạng phối hợp nhôm hydroxyd và 3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A (MPL) hoặc nhôm phosphat ngâm nước có thể được thêm vào. Chỉ có những mẫu vắc xin bán thành phẩm cuối cùng đạt yêu cầu các thử nghiệm dưới đây mới được sử dụng để sản xuất vắc xin thành phẩm.

Chất bảo quản kháng khuẩn

Hàm lượng chất bảo quản kháng khuẩn trong vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được xác định bằng các phương pháp phù hợp. Tổng hàm lượng chất bảo quản cho phép phải từ 85 % đến 115 % hàm lượng chất bảo quản đã đăng ký của nhà sản xuất.

Vô trùng

Đạt yêu cầu về vô trùng. Kiểm tra với 10 ml cho mỗi môi trường (Phụ lục 15.7).

Kiểm tra vắc xin thành phẩm

Chỉ những vắc xin thành phẩm cuối cùng đạt yêu cầu các thử nghiệm dưới đây mới được sử dụng trên người. Thử nghiệm xác định hàm lượng chất bảo quản có thể không yêu cầu nếu đã thực hiện và đạt yêu cầu đối với vắc xin bán thành phẩm cuối cùng. Bên cạnh đó, thử nghiệm công hiệu trên động vật thí nghiệm (*in vivo*) cũng có thể không yêu cầu nếu đã thực hiện và đạt yêu cầu đối với vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Tá chất

Nếu vắc xin có chứa tá chất, giới hạn và hàm lượng tá chất sử dụng được xác định bằng phương pháp phù hợp đã được phê duyệt.

Độ hấp phụ

Độ (%) hấp phụ của mỗi kháng nguyên cũng được đánh giá và phải nằm trong giới hạn đã được phê duyệt. Thử nghiệm này có thể không phải tiến hành trong kiểm định xuất xưởng thông thường nếu đã chứng minh được tính ổn định của sản phẩm.

Nhận dạng

Các týp HPV khác nhau trong vắc xin được nhận dạng bằng các thử nghiệm hóa miễn dịch phù hợp (thường bằng phương pháp ELISA sử dụng kháng thể đặc hiệu hoặc bằng thử nghiệm *in vivo*). Thử nghiệm công hiệu có thể bao gồm cả thử nghiệm nhận dạng.

Nhôm (Phụ lục 15.27)

Nếu vắc xin có chứa nhôm hydroxyd hoặc nhôm phosphat được sử dụng như một chất hấp phụ, hàm lượng chất hấp phụ nhôm phải nằm trong giới hạn đã được phê duyệt và không quá 1,25 mg/liều đơn.

Hàm lượng tá chất 3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A (MPL)

Nếu vắc xin có sử dụng tá chất MLP, hàm lượng sử dụng cần được xác định bằng phương pháp sắc ký khí hoặc bằng

một phương pháp phù hợp được phê duyệt; Hàm lượng MLP phải trong giới hạn từ 80 - 120 % so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Chất bảo quản kháng khuẩn

Xác định hàm lượng chất bảo quản trong vắc xin thành phẩm bằng các phương pháp hóa học hoặc hóa lý phù hợp. Hàm lượng chất bảo quản không được nhỏ hơn hàm lượng tối thiểu có tác dụng bảo quản và không được lớn hơn 115 % so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Vô trùng

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

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)

Không được quá 5 EU/liều đơn dùng cho người. Những vắc xin có chứa chất kích thích miễn dịch (như MPL) thường gây nhiều thử nghiệm, nên chuyển sang kiểm tra chất gây sốt trên thỏ hoặc phương pháp phù hợp khác.

Chất gây sốt (Phụ lục 15.12)

Vắc xin HPV có thể kiểm tra nội độc tố vi khuẩn hoặc chất gây sốt trên thỏ. Các vắc xin có sử dụng tá chất là MPL thì thử nghiệm chất gây sốt nên được kiểm tra. Liều tiêm theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Thử nghiệm chất gây sốt được tiến hành cho đến khi chứng minh được tính an toàn và ổn định của sản xuất.

Thể tích (Phụ lục 11.1)

Kiểm tra ít nhất 3 đơn vị đóng ống. Mỗi đơn vị đóng ống phải đảm bảo có thể tích không được thấp hơn thể tích ghi trên nhãn và trong hồ sơ đăng ký;

Cắm quan

Quan sát bằng mắt thường: Lọ vắc xin đóng nút kín, không có vật thể lạ, có hình thái và màu sắc theo tiêu chuẩn đã đăng ký được phê duyệt.

pH

Phải nằm trong giới hạn theo tiêu chuẩn đã đăng ký được phê duyệt (Phụ lục 15.33).

An toàn chung (Phụ lục 15.11)

Mỗi lô vắc xin thành phẩm phải được kiểm tra về độc tính không mong muốn (có thể được gọi là độc tính không đặc hiệu) bằng thử nghiệm an toàn chung. Thử nghiệm này có thể không phải thực hiện trong kiểm định xuất xưởng thông thường nếu công hiệu của vắc xin được tiến hành theo phương pháp *in vivo*.

Công hiệu

Có thể tiến hành công hiệu *in vivo* hoặc công hiệu *in vitro*. Công hiệu *in vitro*: Xác định bằng phương pháp hóa miễn dịch phù hợp như phương pháp ELISA hoặc miễn dịch phóng xạ (RIA, radioimmunoassay) hoặc phương pháp phù hợp khác được phê duyệt.

Tiêu chuẩn:

Hàm lượng của mỗi týp phải nằm trong giới hạn nhà sản xuất đăng ký đã được phê duyệt.

Công hiệu *in vivo*:

Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng giống BALB/C hoặc các giống chuột khác đã được thâm định, khoẻ mạnh và từ cùng một đàn, khoảng 6 tuần đến 8 tuần tuổi, tốt nhất là chuột cùng một giới.

Chuẩn bị vắc xin thử nghiệm: Vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử được pha loãng thành 5 độ pha. Dung dịch để pha vắc xin là nước muối sinh lý có chứa tá chất nhôm nồng độ như trong vắc xin. Tiêm ổ bụng 0,5 ml mỗi độ pha loãng vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu cần kiểm tra cho mỗi chuột. Mỗi độ pha loãng vắc xin tiêm ít nhất 10 chuột. Tất cả các chuột sau gây miễn dịch được nuôi từ 21 ngày đến 28 ngày trong điều kiện như nhau. Tiến hành gây mê và lấy máu tim chuột. Các mẫu máu được ly tâm 3000 rpm trong 10 min ở nhiệt độ 4 °C đến 8 °C, tách huyết thanh. Các mẫu huyết thanh được bảo quản ở nhiệt độ âm 20 °C (-20 °C). Xác định hiệu giá kháng thể kháng HPV bằng kỹ thuật ELISA trên bộ sinh phẩm chẩn đoán đặc hiệu. Kết quả được tính theo chương trình Probit Analysis (WHO).

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 mẫu thử và mẫu chuẩn đạt yêu cầu về tuyến tính và song song.

Giới hạn tin cậy (P = 0,95) nằm trong giới hạn cho phép.

Tiêu chuẩn:

Theo tiêu chuẩn nhà sản xuất đăng ký đã được phê duyệt.

Bảo quản

Vắc xin phòng HPV được đựng trong bao bì phù hợp (thủy tinh loại I), bảo quản tránh ánh sáng, nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tuyệt đối không được làm vắc xin đông băng.

Nhãn và hướng dẫn sử dụng

Đáp ứng theo quy định hiện hành và có các thông tin sau đây:

Hàm lượng protein L1 và các týp HPV có trong vắc xin;

Loại tế bào được sử dụng để sản xuất vắc xin;

Tên và hàm lượng tá chất và/hoặc chất hấp phụ được sử dụng.

Cách dùng và liều lượng

Tiêm bắp vào vùng cơ delta. Liều dùng theo hướng dẫn của nhà sản xuất đã được phê duyệt.

VẮC XIN QUAI BỊ

Vaccinum parotitidis vivum

Vắc xin quai bị là chế phẩm chứa virus quai bị 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 chính 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 (master seed) virus giảm độc lực, được phê duyệt bởi Cơ quan Kiểm định Quốc gia. Chủng virus quai bị dùng để sản xuất vắc xin phải có 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 -20 °C; nếu không đông khô phải được bảo quản ở nhiệt độ dưới -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 bằng phương pháp trung hòa với kháng huyết thanh đặc hiệu quai bị 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 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 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 quai bị phải được kiểm tra và chứng minh là đạt yêu cầu vô trùng (không có vi khuẩn, nấm và *Mycoplasma* và chứng minh không có chứa virus). Huyết thanh người không được sử dụng trong tất cả các môi trường nuôi cấy của quá trình sản xuất vắc xin.

Quy trình sản xuất và kiểm định sản xuất

Chủng virus quai bị 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, hộn, 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 hộn, 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 quai bị đều phải được tiến hành trong các điều kiện vô trùng, trong khu vực không lưu giữ các dòng tế bào khác.