

15.3 XÁC ĐỊNH ĐỘ PHÂN TÁN CỦA VẮC XIN BCG

Nguyên lý

Vắc xin BCG đông khô sau khi được hoàn nguyên với nước pha thuốc tiêm để kiểm tra độ phân tán của vắc xin này. Nếu vắc xin có độ phân tán kém, tạo cụm nhiều sẽ có nguy cơ gây sưng hạch hoặc sưng hạch mù cho trẻ được tiêm vắc xin.

Tiến hành

Vắc xin BCG đông khô được hoàn nguyên trong nước muối sinh lý (pha từ nước để pha thuốc tiêm) để có đậm độ 1 mg/ml.

Sử dụng nước muối sinh lý dùng để hoàn nguyên vắc xin BCG làm dung dịch mẫu trắng để chuẩn máy đo.

Huyền dịch vắc xin được lắc kỹ trước khi đo mật độ quang (OD).

Đo mật độ quang của hỗn dịch vắc xin ở 2 bước sóng: 434 nm và 630 nm

Tính kết quả

Sau khi đo được OD của huyền dịch vắc xin BCG ở 2 bước sóng nêu trên, tính kết quả theo công thức:

$$\text{Độ phân tán} = \frac{\lg OD_1 - \lg OD_2}{\lg \lambda_2 - \lg \lambda_1}$$

Trong đó:

OD₁ là mật độ quang của hỗn dịch vi khuẩn đo được ở bước sóng 434 nm (lọc màu xanh lam);

OD₂ là mật độ quang của hỗn dịch vi khuẩn đo được ở bước sóng 630 nm (lọc màu đỏ).

Ở công thức này mẫu số (lgλ₂ - lgλ₁) luôn là một hằng số và bằng 0,1618.

Nếu loạt vắc xin BCG đông khô không đạt yêu cầu thì phải nhắc lại thử nghiệm theo yêu cầu như sau:

Nếu thử nghiệm lần 1 có giá trị (valid test) thì phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu thử nghiệm gấp đôi so với thử nghiệm lần 1.

Nếu thử nghiệm lần 1 không có giá trị (invalid test) thì chỉ cần nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu thử nghiệm bằng thử nghiệm lần 1.

Kết quả của lần thử nghiệm nhắc lại nếu không đạt yêu cầu thì loạt vắc xin BCG đông khô đó coi như không đạt yêu cầu về độ phân tán và phải hủy bỏ; nếu đạt yêu cầu thì loạt vắc xin BCG đông khô đó coi như đạt yêu cầu về độ phân tán.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Độ phân tán của vắc xin BCG cho phép là ≥ 0,9.

15.4 XÁC ĐỊNH TÍNH AN TOÀN VẮC XIN DTWP HẤP PHỤ

An toàn đặc hiệu

Tính an toàn đặc hiệu của vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà toàn tế bào (DTWP) được kiểm tra trên mẫu bán thành

phẩm cuối cùng hay vắc xin thành phẩm khi cần thiết và được tiến hành như sau:

An toàn đặc hiệu đối với thành phần bạch hầu và uốn ván

Chọn 5 chuột lang khỏe mạnh, cùng giới (nếu khác giới phải nhốt riêng lồng), có khối lượng 250 g đến 350 g, chưa sử dụng vào bất cứ thử nghiệm nào trước đó; tiêm dưới da cho mỗi chuột lang ít nhất 5 liều đơn vắc xin cho người (liều vắc xin như ghi trên nhãn). Theo dõi chuột hàng ngày và cân khối lượng chuột hàng tuần trong 3 tuần (đối với thành phần uốn ván) và 6 tuần (đối với thành phần bạch hầu).

Nếu có chuột chết phải mổ để kiểm tra phủ tạng về dấu hiệu nhiễm độc bạch hầu (tuyến thượng thận đỏ).

Nếu có hơn một chuột lang chết trong thử nghiệm lần 1, phải nhắc lại thử nghiệm; nếu lần thử nghiệm nhắc lại không có chuột nào có biểu hiện nhiễm độc do độc tố bạch hầu hay uốn ván và có ít nhất 2/3 số chuột thử nghiệm sống sót sau khoảng thời gian theo dõi như quy định (3 tuần đối với vắc xin uốn ván và 6 tuần đối với vắc xin bạch hầu) thì loạt vắc xin DTWP đó đạt yêu cầu về an toàn đặc hiệu đối với thành phần bạch hầu và uốn ván.

Nếu có hơn một chuột lang bị chết vì những nguyên nhân không đặc hiệu và thử nghiệm không có giá trị (invalid test), phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng động vật thí nghiệm và mẫu thử bằng lần 1; nếu vẫn có hơn một chuột lang chết ở lần thử nghiệm thứ 2 thì loạt vắc xin không đạt về an toàn đặc hiệu đối với thành phần bạch hầu và uốn ván, phải hủy bỏ.

Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm có giá trị (valid test), phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu thử và số lượng chuột lang gấp đôi. Nếu thử nghiệm nhắc lại vẫn có quá 1/3 số chuột chết do bất kỳ lý do nào thì loạt vắc xin DTWP này sẽ phải hủy bỏ.

Tiêu chuẩn chấp thuận:

Vắc xin đạt yêu cầu nếu không có chuột lang nào có dấu hiệu liệt do uốn ván hoặc triệu chứng nhiễm độc bạch hầu và ít nhất 80 % chuột sống sót, khỏe mạnh và lên cân trong thời gian 6 tuần (đối với thành phần bạch hầu) hoặc 3 tuần (đối với thành phần uốn ván).

An toàn đặc hiệu đối với thành phần ho gà toàn tế bào (wP)

Dùng 20 chuột nhắt trắng có khối lượng 14 g đến 16 g, cùng giới (nếu có cả 2 giới, cần phân chia đều trong các nhóm) cho mỗi mẫu vắc xin thử và cho nhóm chứng.

Chuột được ăn uống đầy đủ trước khi tiêm 1 h và trong suốt thời gian thí nghiệm. Tổng khối lượng của từng nhóm chuột được xác định ngay trước lúc tiêm. Mỗi chuột được tiêm vào ổ bụng 0,5 ml dung dịch chứa tối thiểu nửa liều đơn vắc xin cho người. Nhóm chứng được tiêm 0,5 ml nước muối sinh lý (tốt nhất chứa cùng hàm lượng chất bảo quản như có trong dung dịch tiêm cho nhóm thí nghiệm). Tổng khối lượng các nhóm chuột được xác định lại vào 72 h và 7 ngày sau tiêm.

Tiêu chuẩn chấp thuận:

Loạt vắc xin đạt yêu cầu nếu đạt cả 3 tiêu chuẩn sau: