

## VẮC XIN TÁI TỔ HỢP PHÒNG PAPILLOMAVIRUS Ở NGƯỜI *Vaccinum papillomaviri humani (ADNr)*

Vắc xin **tái tổ hợp** phòng papilloma virus ở người (HPV- **Human Papilloma Virus**) là **chế phẩm vô trùng chứa các hạt giống virus** (virus-like particles, VLPs) nhưng không gây bệnh; có độ tinh khiết cao, chứa protein capsid chính (L1) của 1 hoặc nhiều týp HPV.

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-O-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 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 thẩm định 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 dược điển 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 chủng giống với số lần cấy chuyển xác định từ chủng virus ban đầu thành chủng gốc và chủng 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. Chủng 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 chủng giống gốc nào đạt yêu cầu các thử nghiệm dưới đây mới được sử dụng để nhân giống.

### **Nhận dạng**

Nhận dạng chủng gốc và chủng 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 chủng virus gốc và chủng sản xuất phải đảm bảo tính đồng nhất trong quá trình sản xuất.

### **Các tác nhân ngoại lai**

Chủng virus làm việc cũng phải tuân thủ các tiêu chuẩn như chủng 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 chủng *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 khuẩn**

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

### **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 gặt đơn để kiểm tra; Không bổ sung kháng sinh vào giai đoạn gặt hay bất cứ giai đoạn sản xuất nào sau đó.

### **Mẻ gặt đơn**

Một mẻ gặt 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 gặt 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 khuẩn**

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

### **Các *tác nhân* ngoại lai**

Tất cả các mẻ gặt 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 chủng 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 chủng 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.

### **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/ 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.

### **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 khuẩn**

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

### **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 khuẩn**

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

### **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 cho phép đã được phê duyệt.

### **Hàm lượng kháng nguyên và nhận dạng**

Mỗi **typ** 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 chuẩn.

## **Vô khuẩn**

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

## **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 khuẩn**

Đạt yêu cầu về vô khuẩn. 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, hàm lượng tá chất sử dụng cần được xác định bằng một phương pháp phù hợp được phê chuẩn; Hàm lượng phải nằm trong giới hạn cho phép đã được phê duyệt.

Nếu sử dụng MPL: Xác định bằng phương pháp sắc ký khí hoặc phương pháp phù hợp.

## **Độ hấp phụ**

Độ (%) hấp phụ của mỗi kháng nguyên cũng được đánh giá và phải nằm trong giới hạn cho phép 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 **typ** 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 phosphate được sử dụng như một chất hấp phụ, hàm lượng chất hấp phụ nhôm phải nằm trong giới hạn cho phép đã được phê duyệt và không quá 1,25mg/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 chuẩn; Hàm lượng phải nằm trong giới hạn từ 80-120% hàm lượng 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 % hàm lượng ghi trên nhãn.

### **Vô khuẩn**

Đáp ứng yêu cầu về tính vô khuẩn (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, thì chuyển sang kiểm tra chất gây sốt trên thỏ hoặc phương pháp phù hợp khác đối với các sản phẩm này.

### **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 đơn vị phân liều và cảm quan**

**Thể tích:** 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;

**Cảm quan:** **Quan sát bằng mắt thường:** Vắc xin phải không có vật thể lạ, có hình thái và màu sắc như đã đăng ký. **Lọ vắc xin được đóng nút kín.**

### **pH**

Phải nằm trong giới hạn cho phép (Phụ lục 15.33).

### **An toàn chung**

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 (Phụ lục 15.11). 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***

Công hiệu *in vitro* của vắc xin phòng HPV được 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 chuẩn.

*Tiêu chuẩn chấp thuận:*

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 thẩm 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:*

ED<sub>50</sub> 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 chấp thuận:*

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

### **Đóng gói**

Vắc xin phòng HPV được đóng trong lọ thủy tinh trung tính hoặc bơm tiêm đóng sẵn (thủy tinh loại I) với pít tông có đáy bằng cao su, có hoặc không có kim tiêm. Mỗi lọ/bơm tiêm chứa 1 liều đơn 0,5 ml huyền dịch. Hộp carton có thể chứa một hoặc nhiều lọ/bơm tiêm đơn liều tùy theo từng nhà sản xuất.

### **Bảo quản**

Vắc xin phòng HPV phải được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tuyệt đối không được làm vắc xin đông băng. Giữ nguyên trong hộp để tránh ánh sáng.

### **Nhãn**

Thông tin trên vỏ hộp, nhãn lọ, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu theo quy định hiện hành.

Nhãn ghi:

- **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;
- **Hạn dùng**;
- Điều kiện bảo quản.

**Cách dùng, liều dùng**

Đường dùng: Tiêm bắp vào vùng cơ delta.

Liều dùng, lịch tiêm: Theo hướng dẫn cụ thể đã đăng ký của nhà sản xuất.

