

TIÊU CHUẨN NGÀNH

10 TCN 192:1994

VACXIN THÚ Y

QUY TRÌNH KIỂM NGHIỆM VACXIN LEPTOSPIRA

Quy trình này áp dụng cho việc kiểm nghiệm vaccin vô hoạt chế tạo từ các chủng vi khuẩn *Leptospira*. Vaccin có dạng lỏng.

1. Mẫu: Theo 10 TCN 160-92

2. Kiểm tra thuần khiết:

Ngoài các thủ tục theo 10 TCN 161-92 còn phải kiểm tra trên môi trường chuyên dụng (Terskith): Cấy vaccin vào môi trường (theo tỷ lệ 1/10) giữ ở nhiệt độ 28 - 30°C trong 2 tuần. Không được có vi khuẩn *Leptospira* mọc trong thời gian theo dõi (nên có một ống môi trường chuyên dụng có cấy *Leptospira* làm đối chứng).

3. Kiểm tra an toàn:

Tiêm dưới da cho 2 chuột lang (250 - 350 g) mỗi con một liều vaccin sử dụng và 3 chuột nhắt trắng (18 - 20g) mỗi con 1/6 liều sử dụng (liều miễn dịch lần đầu cho bản động vật). Theo dõi trong 10 ngày, tất cả động vật phải sống khỏe.

4. Kiểm tra hiệu lực:

Gây miễn dịch bằng cách tiêm dưới da cho 4 thỏ mẫn cảm (2,0 - 2,5 kg) mỗi con một liều vaccin qui định lần một cho bản động vật. Sau 7 ngày thỏ được miễn dịch tiếp, mỗi con một liều vaccin qui định lần 2 cho bản động vật. Sau 3 tuần kể từ lần tiêm đầu, hiệu lực của vaccin được đánh giá bằng một trong hai phương pháp sau:

4.1. Phản ứng vi ngưng kết:

Bốn mẫu huyết thanh của 4 thỏ miễn dịch cùng với 2 mẫu huyết thanh của 2 thỏ đối chứng không tiêm vaccin, pha loãng 1/50, được kiểm tra qua phản ứng vi ngưng kết trên phiến kính với từng chủng *Leptospira* có trong vaccin. Đọc kết quả sau 20-30 phút trên kính tụ quang nền đen:

- Phải có ít nhất hai mẫu huyết thanh miễn dịch có phản ứng dương tính với các chủng *Leptospira* có trong vaccin trong khi các mẫu huyết thanh đối chứng âm tính. Ít nhất 4 chủng *Leptospira* phản ứng dương tính.
- Vaccin không có hiệu lực đối với những chủng có phản ứng âm tính (Không ngưng kết).

4.2. Phản ứng trung hòa:

Hai thỏ miễn dịch cùng với hai thỏ đối chứng được tiêm tĩnh mạch mỗi con 3 ml huyền dịch canh trùng của tất cả các chủng *Leptospira* có trong vaccin (theo tỷ lệ bằng nhau). Sau 24h và 48h, lấy máu tim từng thỏ cấy kiểm tra trên môi trường chuyên dụng. Giữ ở 28-30°C. Theo dõi trong 7 - 14 ngày:

- Môi trường cấy máu thỏ miễn dịch không có *Leptospira* mọc trong khi môi trường cấy máu đối chứng có *Leptospira* mọc. Nếu máu thỏ miễn dịch có *Leptospira* mọc thì dùng huyết thanh đơn giá làm phản ứng vi ngưng kết. Vaccin không có hiệu lực đối với những chủng có phản ứng dương tính với huyết thanh đơn giá tương ứng. Không quá 2 chủng có phản ứng dương tính.