

---

## EVALUATION OF EQUIPMENT SIMILARITY AND THE ROBUTNESS OF PYROGEN TEST PROCEDURE IN VACCINES AND BIOLOGICALS ON EXPERIMENTAL RABBITS AT NICVB

*Phung Thi Ngoc\**, *Vu Thi Thu Huong*, *Le Thi Hoa*, *Nguyen Thi Mai Huong*,

*Pham Trung Duc*

*National Institute for Control of Vaccine and Biologicals*

*Received 18 March 2024*

*Accepted 28 March 2024*

**Abstract:** Evaluating the similarity of equipments and the robustness of the pyrogen test procedure in vaccines/biological products on experimental rabbits was performed on on two pyrogen measuring systems currently available at NICVB: Pyrogen Monitor and Pyromon Pro. The procedure was repeated 3 times on each machine system by the same technical persons, same materials, same working environmental conditions and on the same batch of SAT samples. Test results show that the average total temperature response of rabbits on 2 machines over 3 times was 0.54<sup>0</sup>C and 0.35<sup>0</sup>C respectively. Comparing the variance of the two machines shows that there is equal, from which the t-test = 1,044 is calculated, which is smaller than the t-table (t-table = 2,776) with 95% confidence. In addition, the coefficient of variation (CV) values of the two machine systems both reached under 50%, meeting the CV standards for an invivo test. Thus, these two pyrogen measuring systems are similar equipment, and the process of testing pyrogens in vaccines and biological products on experimental rabbits at NICVB meets requirements of the robustness.

*Keywords: Pyrogen, experimental rabbit, equipment similarity, robustness.*

---

\*Corresponding author:

E-mail address: ngoc.nicvb@gmail.com

<http://doi.org/>

# ĐÁNH GIÁ ĐỘ TƯƠNG ĐỒNG THIẾT BỊ VÀ ĐỘ MẠNH CỦA QUY TRÌNH KIỂM TRA CHẤT GÂY SỐT TRONG VẮC XIN, SINH PHẨM TRÊN THỎ THỰC NGHIỆM TẠI NICVB

Phùng Thị Ngọc, Vũ Thị Thu Hương, Lê Thị Hòa, Nguyễn Thị Mai Hương,  
Phạm Trung Đức

*Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế*

*Nhận ngày 18 tháng 3 năm 2024*

*Chấp nhận đăng ngày 28 tháng 03 năm 2024*

**Tóm tắt:** Đánh giá độ tương đồng thiết bị và độ mạnh của quy trình kiểm tra chất gây sốt trong vắc xin/sinh phẩm trên thỏ thực nghiệm được thực hiện trên hai hệ thống máy đo thân nhiệt của thỏ hiện có tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB): Pyrogen Monitor và Pyromon Pro. Mỗi hệ thống máy thực hiện lặp lại quy trình 3 lần bởi cùng 1 nhóm kỹ thuật, cùng nguyên vật liệu, cùng điều kiện môi trường làm việc và trên cùng 1 lô mẫu thử SAT. Kết quả kiểm tra cho thấy trung bình tổng nhiệt độ đáp ứng của thỏ trên 2 máy qua 3 lần thực hiện lần lượt là:  $0,54^{\circ}\text{C}$  và  $0,35^{\circ}\text{C}$ . So sánh phương sai của 2 máy cho thấy có sự giống nhau, từ đó tính được  $t\text{-test} = 1,044$  thấy nhỏ hơn  $t\text{-bảng} = 2,776$  với độ tin cậy 95%. Ngoài ra, giá trị hệ số biến thiên (CV) của 2 hệ thống máy đều đạt  $<50\%$ , đáp ứng tiêu chuẩn CV của thử nghiệm *invivo*. Như vậy 2 hệ thống máy đo thân nhiệt của thỏ này có sự tương đồng thiết bị, và quy trình kiểm tra chất gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm trên thỏ thực nghiệm tại NICVB đạt yêu cầu về độ mạnh.

*Từ khoá:* Chất gây sốt, thử thực nghiệm, độ tương đồng thiết bị, độ mạnh.

## 1. Đặt vấn đề

Chất gây sốt là các tác nhân có thể tạp nhiễm trong quá trình sản xuất vắc xin và sinh phẩm y tế. Việc tiếp xúc của chất gây sốt với hệ thống tuần hoàn trong quá trình tiêm truyền khiến cơ thể gây ra phản ứng sốt. Chất gây sốt khi đi vào máu có thể gây ra các phản ứng có hại cho vật chủ, bao gồm sốc nhiễm trùng hoặc thậm chí tử vong [1]. Vì vậy các nhà sản xuất vắc xin, sinh

phẩm phải có trách nhiệm đảm bảo rằng sản phẩm của họ đạt yêu cầu về thử nghiệm chất gây sốt. Do đó, kiểm soát chất gây sốt trở thành một trong số các tiêu chí chất lượng quan trọng của các sản phẩm là vắc xin, sinh phẩm.

Tại Viện Kiểm định Quốc gia vắc xin và sinh phẩm y tế (NICVB), việc kiểm tra chất gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm hiện đang áp dụng phương pháp sử dụng thỏ

thực nghiệm theo nguyên lý dựa trên sự tăng thân nhiệt của thỏ sau khi tiêm và so với trước khi tiêm mẫu thử. Thử nghiệm này được thực hiện bởi khoa Kiểm định Sinh phẩm y tế (SPYT) và đang sử dụng máy đo thân nhiệt của thỏ (gọi tắt là máy đo chỉ nhiệt tố) model Pyrogen Monitor (Model ATP 75991660B) từ năm 2016 đến nay. Hiện tại, khoa mới được bổ sung thêm một máy đo chỉ nhiệt tố mới model Pyromon Pro (Seri 542118). Để đánh giá xem quy trình kiểm tra chất gây sốt có bị ảnh hưởng bởi sự thay đổi về trang thiết bị hay không, đồng thời cũng để chỉ rõ độ tin cậy của quy trình phân tích này khi được áp dụng tại NICVB, chúng tôi tiến hành nghiên cứu “Đánh giá độ tương đồng thiết bị và độ mạnh của quy trình kiểm tra chất gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm trên thỏ thực nghiệm tại NICVB”.

Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá độ tương đồng thiết bị giữa 2 hệ thống máy đo chỉ nhiệt tố Pyrogen Monitor và Pyromon Pro và đánh giá độ mạnh của quy trình kiểm tra chất gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm trên thỏ thực nghiệm tại NICVB.

## **2. Phương pháp nghiên cứu**

### **2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu**

Đối tượng nghiên cứu là 2 hệ thống máy đo chỉ nhiệt tố hiện có tại NICVB (Pyrogen Monitor và Pyromon Pro) và độ mạnh của quy trình kiểm tra chất gây sốt

trong vắc xin và sinh phẩm được thực hiện tại NICVB. Thời gian thực hiện: từ tháng 3/2023 đến tháng 10/2023.

### **2.2. Nguyên vật liệu phục vụ nghiên cứu**

Nghiên cứu sử dụng mẫu thử là sinh phẩm Huyết thanh kháng độc tố uốn ván tinh chế (SAT), lô số 517-00-22, NSX 18/11/2022, HSD 15/09/2024, do Viện vắc xin và sinh phẩm y tế sản xuất. Thỏ khỏe mạnh  $\geq 1,5\text{kg}$  được cung cấp bởi khoa Động vật thực nghiệm.

### **2.3. Thiết kế nghiên cứu**

Thiết kế nghiên cứu theo phương pháp mô tả thực nghiệm trong phòng thí nghiệm.

Nghiên cứu được tiến hành thông qua việc kiểm tra chất gây sốt trong sinh phẩm SAT (như đã đề cập ở trên) thực hiện bởi cùng 1 nhóm kỹ thuật với cùng nguyên vật liệu và điều kiện môi trường nhưng bằng 2 hệ thống máy đo chỉ nhiệt tố khác nhau, thực hiện lặp lại 3 lần song song trên mỗi hệ thống máy. Từ các số liệu đo được, so sánh giá trị trung bình đo được bởi 2 hệ thống máy, từ đó đánh giá độ tương đồng giữa 2 hệ thống thiết bị này [9-11]. Độ mạnh của quy trình sẽ được đánh giá thông qua so sánh với tiêu chuẩn chấp thuận gồm CV và giá trị t-test. Thử nghiệm kiểm tra chất gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm là một thử nghiệm *in vivo* (thực hiện trên động vật là thỏ), do đó CV tối đa cho phép là 50%. Do vậy, độ mạnh của quy trình kiểm tra chất

gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm là đạt yêu cầu khi:  $CV \leq 50\%$  và  $t\text{-test} \leq t\text{-bảng}$  (với  $\alpha = 0,05$ , tức độ tin cậy 95%) [5].

Hai hệ thống máy đo thân nhiệt của

thỏ được đánh giá trong nghiên cứu là: Pyrogen Monitor (ký hiệu M1), và Pyromon Pro (ký hiệu M2).

**Bảng 1. Thiết kế nghiên cứu**

Nội dung/	Hệ thống máy	Pyrogen Monitor (M1)	Pyromon Pro (M2)
<b>1. Kiểm tra chất gây sốt của 1 mẫu thử trên 2 hệ thống máy đo (thực hiện 3 lần)</b>			
Tổng nhiệt độ đáp ứng của 3 thỏ ( $\Sigma T.ĐƯ$ ) ( $^{\circ}C$ )	Lần thử nghiệm 1 (L1)	$\Sigma T.ĐƯ (M1.L1)$	$\Sigma T.ĐƯ (M2.L1)$
	Lần thử nghiệm 2 (L2)	$\Sigma T.ĐƯ (M1.L2)$	$\Sigma T.ĐƯ (M2.L2)$
	Lần thử nghiệm 3 (L3)	$\Sigma T.ĐƯ (M1.L3)$	$\Sigma T.ĐƯ (M2.L3)$
<b>2. Đánh giá độ tương đồng thiết bị và độ mạnh của quy trình kiểm tra chất gây sốt</b>			
- Tính Trung bình $\Sigma T.ĐƯ$ của 3 lần thực hiện thử nghiệm (Mean)		Mean (M1)	Mean (M2)
- Tính Độ lệch chuẩn (SD)		SD (M1)	SD (M2)
- Tính Hệ số biến thiên (CV) (%)		CV (M1)	CV (M2)
- Tính Phương sai (VAR)		VAR (M1)	VAR (M2)
- Tính giá trị F-test (so với F-bảng)		So sánh sự đồng nhất giữa 2 phương sai VAR (M1) và VAR (M2)	
- Tính giá trị t-test (so với t-bảng)		So sánh sự khác biệt về giá trị trung bình đo được giữa 2 hệ thống thiết bị M1 và M2	
Đánh giá độ tương đồng giữa 2 hệ thống thiết bị			
Đánh giá độ mạnh của quy trình (So sánh với tiêu chuẩn chấp thuận: CV và t-test)			

#### 2.4. Quy trình kiểm tra chất gây sốt trong mẫu thử trên động vật thực nghiệm

Theo Dược điển Việt Nam V-2017 và SOP KĐQG-22 Kiểm tra chất gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm của NICVB, một quy trình kiểm tra chất gây sốt của mẫu thử trên ĐVTN gồm 2 thử nghiệm nối tiếp: Thử nghiệm thăm dò và thử nghiệm chính. Chỉ những thỏ đạt thử nghiệm thăm dò mới được đưa vào thực hiện thử nghiệm chính [2,4].

Ở thử nghiệm thăm dò, mỗi mẫu thử cần kiểm tra tương ứng sẽ cần thực hiện thăm dò nhiệt độ của 05 thỏ. Thỏ thực hiện

thử nghiệm thăm dò sẽ được tiêm dung dịch nước muối sinh lý (NMSL) 0,9% với hàm lượng 10 ml/kg vào tĩnh mạch rìa tai. Theo dõi sau tiêm 3 giờ, hệ thống máy sẽ trả kết quả đo nhiệt độ thỏ trước khi tiêm (T.base), nhiệt độ cao nhất (T.max) và thấp nhất (T.min) sau tiêm [0,0]. Dựa vào nhiệt độ này, người thực hiện sẽ tính toán nhiệt độ dao động (T.ĐĐ) của thỏ theo hướng dẫn trong Dược điển. Theo Dược điển Việt Nam V, T.ĐĐ được tính là số có giá trị lớn hơn trong kết quả trị số tuyệt đối của 2 hiệu số sau:  $|T.max - T.base|$  và  $|T.min - T.base|$ . Thỏ đạt yêu cầu thử nghiệm thăm

dò khi nhiệt độ dao động  $\leq 0,6^{\circ}\text{C}$  sau khi kết thúc thử nghiệm. Chỉ những thỏ đạt yêu cầu thăm dò mới được đưa vào thử nghiệm chính sau 1-3 ngày [2].

Ở thử nghiệm chính, các thỏ sẽ được nhóm 3 thỏ vào 1 nhóm tương ứng cho một mẫu thử vắc xin/sinh phẩm cần kiểm tra. Việc nhóm thỏ sẽ do hệ thống máy đo chỉ nhiệt tự động nhóm theo tiêu chuẩn được điện đã được cài đặt sẵn trong phần mềm của máy. Theo dõi sau tiêm mẫu thử 3 tiếng, hệ thống máy sẽ trả kết quả đo nhiệt độ thỏ trước khi tiêm (T.base), nhiệt độ cao nhất (T.max) và thấp nhất sau tiêm (T.min). Đồng thời, hệ thống máy cũng tự động tính nhiệt độ đáp ứng (T.ĐU) của mỗi thỏ và tổng nhiệt độ đáp ứng của nhóm 3 thỏ ( $\Sigma\text{T.ĐU}$ ) [6,7].

Tiêu chuẩn mẫu thử đạt yêu cầu về chất gây sốt tuân theo được điện mà nhà sản xuất áp dụng. Với mẫu thử sử dụng trong nghiên cứu này là sinh phẩm SAT, theo NSX đăng ký, tiêu chuẩn áp dụng đối với sinh phẩm này là Dược điện Việt Nam. Như vậy, điều kiện mẫu thử đạt yêu cầu về chất gây sốt là: nhiệt độ đáp ứng của mỗi thỏ  $\text{T.ĐU} \leq 0,6^{\circ}\text{C}$  và tổng đáp ứng của 3 thỏ  $\Sigma\text{T.ĐU} \leq 1,3^{\circ}\text{C}$  trong lần thử nghiệm đầu tiên [2,4].

### 2.5. Xử lý và phân tích số liệu

Các số liệu sẽ được nhập vào phần mềm Excel và tính ra các giá trị trung bình (Mean), độ lệch chuẩn (SD), hệ số biến thiên (CV) và phương sai (VAR) của từng hệ thống máy, sau đó so sánh sự giống nhau

giữa 2 phương sai của 2 hệ thống máy (sử dụng hàm F-test), từ đó có cách tính giá trị t-test để đánh giá sự khác biệt về giá trị trung bình đo được bởi 2 hệ thống máy, qua đó đánh giá độ tương đồng giữa 2 hệ thống thiết bị và độ mạnh của quy trình kiểm tra chất gây sốt tại NICVB.

## 3. Kết quả

### 3.1. Kiểm tra chất gây sốt của mẫu thử SAT trên 2 hệ thống thiết bị Pyrogen Monitor và Pyromon Pro

Theo bố trí (mục 2.3), nghiên cứu được tiến hành lặp 3 lần, tương ứng sẽ có 3 lần thực hiện thử nghiệm thăm dò và 3 lần thử nghiệm chính trên đồng thời cả 2 hệ thống máy. Chỉ những thỏ đạt thử nghiệm thăm dò (thỏ có  $\text{T.ĐĐ} \leq 0,6^{\circ}\text{C}$  sau khi hoàn thành thử nghiệm thăm dò) mới được chuyển sang thực hiện thử nghiệm chính.

Ở thử nghiệm chính, hệ thống máy đo nhiệt độ sẽ dựa vào nhiệt độ ban đầu (T.base) để tự động nhóm mỗi 3 thỏ thành 1 nhóm cho tiêm mẫu thử. Những thỏ được nhóm và tiêm mẫu thử sẽ được hệ thống máy theo dõi đo nhiệt độ của thỏ trong thời gian 3 tiếng sau tiêm. Kết thúc thử nghiệm, hệ thống máy sẽ trả kết quả và tính toán nhiệt độ T.ĐU của từng thỏ trong nhóm và  $\Sigma\text{T.ĐU}$  của 3 thỏ trong mỗi nhóm. Bảng dưới đây trình bày kết quả 3 lần thực hiện thử nghiệm chính trên 2 hệ thống máy khác nhau:

**Bảng 2. Kết quả thử nghiệm chính của 3 lần kiểm tra trên 2 hệ thống máy**

Hệ thống máy	Thử nghiệm chính lần 1					Thử nghiệm chính lần 2					Thử nghiệm chính lần 3				
	Mã thỏ	T. base	T. max	T. ĐƯ	ΣT. ĐƯ	Mã thỏ	T. base	T. max	T. ĐƯ	ΣT. ĐƯ	Mã thỏ	T. base	T. max	T. ĐƯ	ΣT. ĐƯ
Pyrogen Monitor (M1)	da644	38,82	39,08	0,26	<b>0,61</b>	da662	38,79	38,88	0,09	<b>0,24</b>	da684	38,78	39,12	0,34	<b>0,76</b>
	da646	38,98	38,86	0,00		da664	39,15	39,09	0,00		da688	38,68	39,10	0,42	
	da647	38,58	38,93	0,35		da668	38,99	39,14	0,15		da690	38,86	38,86	0,00	
Pyromon Pro (M2)	TD01	39,29	39,27	0,00	<b>0,17</b>	TD07	38,81	39,10	0,29	<b>0,44</b>	TD11	39,02	38,99	0,13	<b>0,44</b>
	TD02	39,06	39,17	0,11		TD08	39,18	39,29	0,11		TD12	39,03	39,06	0,20	
	TD05	38,68	38,74	0,06		TD10	39,06	39,10	0,04		TD13	38,86	38,74	0,11	

Ghi chú: T.base = Nhiệt độ thỏ trước khi tiêm; T.max = Nhiệt độ cao nhất của thỏ sau tiêm; T.min = Nhiệt độ thấp nhất của thỏ sau tiêm; T.ĐƯ = Nhiệt độ đáp ứng sau tiêm; ΣT.ĐƯ = Tổng nhiệt độ đáp ứng sau tiêm của nhóm 3 thỏ (Đơn vị đo: °C)

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy ở cả 3 lần thử nghiệm chính đối với cả 2 hệ thống máy đo chỉ nhiệt tổ, nhiệt độ đáp ứng (T.ĐƯ) của mỗi thỏ đều <0,6°C và tổng nhiệt độ đáp ứng của 3 thỏ trong mỗi nhóm/lần thử lần lượt ở 2 hệ thống máy là: 0,61°C, 0,24°C và 0,76°C (với hệ thống máy Pyrogen Monitor) và 0,17°C, 0,44°C và 0,44°C (với hệ thống máy Pyromon Pro). Theo tiêu chuẩn đăng ký của Nhà sản xuất và cũng là theo Dược điển Việt Nam V-2017 [2,4], một mẫu thử đạt yêu cầu về kiểm tra chất gây sốt khi nhiệt độ đáp ứng của mỗi thỏ trong nhóm đều phải <0,6°C và tổng nhiệt độ đáp ứng của 3 thỏ trong nhóm phải <1,3°C. So sánh với tiêu chuẩn này, các kết quả kiểm tra nhận được ở 2 mẫu thử trên

đều đáp ứng yêu cầu. Như vậy lô sinh phẩm SAT được kiểm tra đạt yêu cầu về chất gây sốt ở cả 3 lần kiểm tra và trên cả 2 hệ thống thiết bị đo nhiệt độ theo Tiêu chuẩn đăng ký của Nhà sản xuất.

### 3.2. Đánh giá độ tương đồng thiết bị và độ mạnh của quy trình kiểm tra chất gây sốt

Từ số liệu ghi nhận được ở các thỏ qua 3 lần thực hiện thử nghiệm trên 2 hệ thống máy đo Pyrogen Monitor (M1) và Pyromon Pro (M2), chúng tôi nhập vào phần mềm Excel và tính ra các giá trị trung bình (Mean), độ lệch chuẩn (SD), hệ số biến thiên (CV) và phương sai (VAR) của từng hệ thống máy như sau:

**Bảng 3. Tổng hợp kết quả đánh giá trên 2 hệ thống máy**

Nội dung/Hệ thống máy		Pyrogen Monitor (M1)	Pyromon Pro (M2)
Tổng nhiệt độ đáp ứng của 3 thỏ ( $\Sigma T.ĐU$ ) ( $^{\circ}C$ )	Lần thử nghiệm 1	<b>0,61</b>	<b>0,17</b>
	Lần thử nghiệm 2	<b>0,24</b>	<b>0,44</b>
	Lần thử nghiệm 3	<b>0,76</b>	<b>0,44</b>
Trung bình $\Sigma T.ĐU$ (Mean)		<b>0,54</b>	<b>0,35</b>
Độ lệch chuẩn (SD)		<b>0,27</b>	<b>0,16</b>
Hệ số biến thiên (CV) (%)		<b>49,87</b>	<b>44,54</b>
Phương sai (VAR)		<b>0,072</b>	<b>0,024</b>

Từ các kết quả trên, theo thiết kế nghiên cứu (mục 2.3.2.), giá trị trung bình (Mean) đo được bởi hai hệ thống máy sẽ được so sánh bằng chuẩn t-Student. Theo phương pháp này, trước hết cần tìm giá trị

**Bảng 4. Tính giá trị F-test**

F-Test Two-Sample for Variances		
	Variable 1	Variable 2
Mean	0.54	0.35
Variance	0.07	0.02
Observations	3	3
df	2	2
F	<b>2.948</b>	
P(F<=f) one-tail	0.2533009	
F Critical one-tail	<b>19</b>	

Bảng 4 cho thấy, giá trị F của thử nghiệm (F-test) tính được là 2,948 nhỏ hơn giá trị F-bảng (F-bảng = 19). F-bảng là giá trị thuộc bảng phân phối Fisher với mức ý nghĩa  $\alpha=0,05$  tức độ tin cậy 95%. Khi giá trị F-test  $\leq$  F-bảng chứng tỏ 2 phương sai giống nhau (Equal Variance) [0,0]. Với số lần phân tích nhỏ hơn 30, giá trị t-test được áp dụng hàm t-Test cho hai mẫu có phương sai giống nhau (Two-Sample Assuming

F thử nghiệm (F-test), sau đó dựa vào giá trị F-test này để tính ra giá trị t thử nghiệm (t-test). Kết quả giá trị F-test tính được sử dụng công cụ Data Analysis trong Excel như ở Bảng 4.

**Bảng 5. Tính giá trị t-test**

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances		
	Variable 1	Variable 2
Mean	0.54	0.35
Variance	0.07	0.02
Observations	3	3
Pooled Variance	0.048	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	<b>1.044</b>	
P(T<=t) one-tail	0.178	
t Critical one-tail	2.132	
P(T<=t) two-tail	0.355	
t Critical two-tail	<b>2.776</b>	

Equal Variances) trong Data Analysis Excel ra kết quả như Bảng 5. Theo đó, kết quả tính được là t-test = 1,044 < t-bảng (2,776) với mức ý nghĩa  $\alpha=0,05$  (tức độ tin cậy 95%).

#### 4. Bàn luận

##### 4.1. Độ tương đồng thiết bị giữa hai hệ thống máy đo chỉ nhiệt tổ

Đối với một thử nghiệm, khi có nhiều hơn 1 thiết bị đo được sử dụng cho thực hiện thử nghiệm đó, việc đánh giá xem

kết quả thực hiện trên các thiết bị khác nhau này có tương đồng nhau hay không là việc làm rất quan trọng. Do đó, đánh giá độ tương đồng giữa hai hệ thống thiết bị đo thân nhiệt của thỏ là việc cần thiết để đảm bảo kết quả của thử nghiệm kiểm tra chất gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm tại NICVB [3,9].

Nghiên cứu đánh giá độ tương đồng giữa hai hệ thống thiết bị Pyrogen Monitor và Pyromon Pro tại NICVB được thiết kế thực hiện lặp lại 3 lần trên cùng 1 loại mẫu thử, bởi cùng 1 nhóm kỹ thuật, cùng nguyên vật liệu, cùng điều kiện môi trường và thời gian thực hiện, chỉ khác biệt là thân nhiệt thỏ được đo bởi 2 hệ thống thiết bị khác nhau. Số liệu nhiệt độ đáp ứng của thỏ trung bình qua 3 lần thực hiện được đánh giá dựa trên phương pháp so sánh 2 phương sai dùng chuẩn F- Fisher, từ đó so sánh giá trị trung bình của 2 hệ thống máy bằng chuẩn t-Student. Thiết kế như vậy là hợp lý và tuân thủ theo đúng phương pháp khoa học khi đánh giá độ tương đồng giữa hai hệ thống thiết bị khác nhau [3,9].

Từ kết quả tổng hợp (Bảng 3) và kết quả phân tích Data Analysis so sánh sự giống nhau giữa 2 phương sai (VAR) của hai hệ thống máy (Bảng 4) cho thấy F-test < F-bảng (F-test = 2,948 trong khi F-bảng = 19). Theo ý nghĩa của phương pháp so sánh sử dụng hàm F-test [0,0], khi F-test < F-bảng chứng tỏ 2 phương sai giống nhau (equal variance). Từ đây, với cỡ mẫu nhỏ

hơn 30, để so sánh giữa 2 số trung bình đo được, cần tính t-test bằng cách sử dụng hàm t-test với 2 mẫu phương sai giống nhau (t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances) trong Data Analysis (kết quả cụ thể ở Bảng 5). Kết quả cho thấy giá trị t-test tính được là t-test = 1,044. So với giá trị t-bảng = 2,776 với mức ý nghĩa  $\alpha=0,05$  (độ tin cậy 95%), ta thấy t-test < t-bảng. Theo ý nghĩa của phương pháp so sánh sử dụng chuẩn t-Student, điều này chứng tỏ các số liệu đo được giữa 2 hệ thống máy đo thân nhiệt thỏ sử dụng không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê. Hay nói một cách khác, hai hệ thống thiết bị đo thân nhiệt của thỏ là Pyrogen Monitor và Pyromon Pro này có sự tương đồng [9,10].

#### **4.2. Độ mạnh của quy trình kiểm tra chất gây sốt trên thỏ thực nghiệm**

Theo định nghĩa, độ mạnh của quy trình là khả năng quy trình tạo ra những kết quả phân tích có độ chính xác và độ đúng chấp nhận được trong các điều kiện khác nhau [5]. Tại NICVB, với hai thiết bị khác nhau cùng được sử dụng để đo thân nhiệt của thỏ, việc đánh giá độ mạnh của quy trình thử nghiệm sẽ xác định được phạm vi ảnh hưởng của sự thay đổi về thiết bị đo này. Sử dụng cùng một lô mẫu thử trong cùng một điều kiện thử nghiệm và cùng các nguyên vật liệu, nhưng khác biệt về thiết bị đo thân nhiệt của thỏ, sẽ đánh giá được xem quy trình thử nghiệm có độ mạnh (tức độ



chính xác và độ đúng chấp nhận được) hay không.

Theo ICH và SOP KĐQG-34 Thẩm định quy trình của NICVB [3,5], tiêu chuẩn chấp thuận khi đánh giá độ mạnh của quy trình khi thực hiện trên 2 nhóm trang thiết bị khác nhau, gồm: 1) CV (%) của từng nhóm (nồng độ/hàm lượng chất có trong mẫu thử, bản chất của mẫu thử, phương pháp thử) đạt yêu cầu; và 2) t-test  $\leq$  t-bảng với mức ý nghĩa  $\alpha = 0,05$  (tức với độ tin cậy 95%). Thử nghiệm kiểm tra chất gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm được thực hiện trên đối tượng là động vật (thỏ), do đó chúng tôi chọn mức CV tối đa cho phép đối với một thử nghiệm *in vivo* là 50%:  $CV \leq 50\%$ . So sánh kết quả thực hiện nghiên cứu với các điều kiện trên cho thấy: CV (M1) = 49,87% và CV (M2) = 44,54%, cả 2 giá trị CV này đều  $< 50\%$ ; t-test = 1,044  $<$  t-bảng = 2,776. Như vậy cả 2 kết quả nghiên cứu đều đáp ứng tiêu chuẩn chấp thuận về đánh giá độ mạnh của quy trình. Điều này chứng tỏ quy trình kiểm tra chất gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm trên thỏ thực nghiệm có độ mạnh đạt yêu cầu khi sử dụng hai hệ thống máy đo chỉ nhiệt tố khác nhau tại NICVB.

## 5. Kết luận

Các kết quả đánh giá cho thấy hai hệ thống máy đo thân nhiệt của thỏ hiện có tại NICVB (Pyrogen Monitor và Pyromon Pro) có sự tương đồng, và quy trình kiểm tra chất gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm trên thỏ

thực nghiệm tại NICVB đạt yêu cầu về độ mạnh.

## Tài liệu tham khảo

- [1] Dinarello, C.A., O'Connor, J.V., LoPrete, G., Swift, R.L., 1984. Human leukocytic pyrogen test for detection of pyrogenic material in growth hormone produced by recombinant Escherichia coli. J. Clin. Microbiol. 20, 323–329.
- [2] Dược điển Việt Nam V-2017. Mục 15.12. Xác định chất gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm.
- [3] European Medicines Agency (2022) ICH guideline Q2 (R2) on validation of analytical procedures. P.3,15,29.
- [4] NICVB. SOP KĐQG-22 Kiểm tra chất gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm
- [5] NICVB. SOP KĐQG-34 Thẩm định quy trình
- [6] NICVB. SOP SP01-29: Vận hành máy đo chỉ nhiệt tố Pyrogen Monitor
- [7] NICVB. SOP SP01-30: Vận hành máy đo chỉ nhiệt tố Pyrogen Pro
- [8] NICVB-SPYT (2023). Báo cáo Thẩm định quy trình Kiểm tra chất gây sốt trong vắc xin, sinh phẩm trên động vật thực nghiệm.
- [9] <https://chatluongxetnghiem.com/huong-dan-danh-gia-do-tuong-dong-thiet-bi/>. Ngày truy cập 20/9/2023.
- [10] <https://resources.nu.edu/statsresources/IndependentSamples>. Ngày truy cập 20/9/2023.

[11] WHO TRS, No.937, 2006. Annex 4.

P.137-139.