

VALIDATING THE PROCEDURE OF DETERMINATION OF PHENOL CONTENT IN VACCINE BY REVERSE PHASE CHROMATOGRAPHY METHOD

**Dam Thi Lieu*, Doan Huu Thien, Duong Thi Cam Le, Pham Quang Minh,
Canh Huyen Trang, Bui Thanh Tung, Nguyen Quyet Thang**

National Institute for Control of Vaccine and Biologicals

Received 08 April 2024

Accepted 25 June 2024

Abstract: Phenol (C_6H_6O) is used as a preservative in vaccines and is approved by the FDA. To ensure the quality of test results and comply with the provisions of ISO/IEC 17025:2017, NRA and GLP, we perform the study "Validation of the process for determining phenol content in vaccines by reverse - phase chromatography with the goals validating the procedure "determination of phenol content in vaccines by reversed-phase chromatography" and estimating the measurement uncertainty of Typhoid Vi vaccine. The study used the experimental description method and data processing using Microsoft Excel software to obtain the following results: precision (1.23%), accuracy (recovery 100.63%), robustness (there was no average difference in the results of phenol content on Typhoid Vi samples of the two groups), specificity (no substance detected in Quimihib vaccine), linearity (accuracy and precision at the points of Standard curve meets AOAC standards), LOQ is 9.47 ppm. The measurement uncertainty of Typhoid Vi vaccine is 0.24 $\mu g/dose$. The results show that the procedure "determination of phenol content in vaccines by reversed-phase chromatography" is valuable and suitable for testing phenol content at the National Institute for Control of Vaccines and Biologicals.

Keywords: Phenol, Typhoid Vi, chromatography.

* Corresponding author

E-mail address: Damthilieunicvb@gmail.com

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v4i2.152>

THẨM ĐỊNH QUY TRÌNH XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG PHENOL TRONG VẮC XIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ PHA ĐẢO

Đàm Thị Liễu*, Đoàn Hữu Thiện, Đường Thị Cẩm Lệ, Phạm Quang Minh,
Cảnh Huyền Trang, Bùi Thanh Tùng, Nguyễn Quyết Thắng

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

Nhận ngày 08 tháng 04 năm 2024
Chấp nhận đăng ngày 25 tháng 06 năm 2024

Tóm tắt: Phenol (C_6H_6O) được sử dụng làm chất bảo quản trong vắc xin và đã được FDA phê duyệt. Để đảm bảo chất lượng kết quả thử nghiệm và tuân thủ theo quy định của ISO/IEC 17025:2017, NRA và GLP chúng tôi tiến hành nghiên cứu “Thẩm định quy trình xác định hàm lượng phenol trong vắc xin bằng phương pháp sắc ký pha đảo” với mục tiêu thẩm định quy trình “xác định hàm lượng phenol trong vắc xin bằng phương pháp sắc ký pha đảo” và ước lượng độ không đảm bảo đo của vắc xin Thương hàn Vi. Nghiên cứu sử dụng phương pháp mô tả thực nghiệm và xử lý số liệu bằng phần mềm Microsoft Excel thu được kết quả: độ chính xác (1,23%), độ đúng (độ thu hồi 100,63%), độ mạnh (không có sự khác biệt trung bình kết quả hàm lượng phenol trên mẫu Thương hàn Vi của hai nhóm), độ đặc hiệu (không phát hiện chất trong vắc xin Quimihib), tính tuyến tính (độ chính xác và độ đúng tại các điểm của đường chuẩn đạt theo tiêu chuẩn AOAC), LOQ là 9,47 ppm. Độ không đảm bảo đo của vắc xin Thương hàn Vi là 0,24 $\mu g/liều$. Kết quả cho thấy quy trình “xác định hàm lượng phenol trong vắc xin bằng phương pháp sắc ký pha đảo” có giá trị và phù hợp trong kiểm định hàm lượng phenol tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế.

Từ khoá: Phenol, thương hàn Vi, sắc ký.

1. Đặt vấn đề

Phenol có trong vắc xin với vai trò là chất bảo quản có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn, với hàm lượng phenol nằm trong tiêu chuẩn cho phép của mỗi vắc xin an toàn, không gây hại. Hàm lượng phenol cao vượt quá tiêu chuẩn cho phép có thể gây ngộ độc tế bào và gây hại cho cơ thể. Ngược lại hàm lượng phenol thấp hơn tiêu chuẩn cho phép sẽ không có tác dụng ức chế sự phát triển của vi khuẩn [1,2]. Vì vậy cần

thiết phải kiểm soát hàm lượng phenol trong vắc xin.

Quy trình xác định hàm lượng phenol trong vắc xin tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế được xây dựng năm 2021 nhưng chưa được xác nhận giá trị sử dụng. Để đảm bảo yêu cầu của ISO/IEC 17025:2017, NRA, GLP và chứng minh quy trình đáp ứng được các yêu cầu đặt ra, đảm bảo được chất lượng kết quả của thử nghiệm, chúng tôi tiến hành nghiên cứu: “Thẩm định

quy trình xác định hàm lượng phenol trong vắc xin bằng phương pháp sắc ký pha đảo”.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng, thời gian, địa điểm nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: xác định hàm lượng phenol trong vắc xin bằng phương pháp sắc ký pha đảo.

- Thời gian và địa điểm nghiên cứu: nghiên cứu được tiến hành tại Khoa Hoá lý - Viện kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế, từ tháng 01/2024 đến tháng 03/2024.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp mô tả thực nghiệm, phương pháp xử lý số liệu: phân tích thống kê, xử lý số liệu bằng phần mềm Microsoft Excel.

- Xác định LOQ theo công thức:

+ LOQ = 10*s/a [3,4]

Trong đó:

s: sai số chuẩn trung bình của phương trình đường chuẩn

a: độ dốc trung bình của phương trình đường chuẩn

- Xác định độ KĐB đo theo công thức:

Tính phương sai lặp lại S_{Rj}^2 , phương sai tái lặp S_{Rj}^2 và độ không đảm bảo đo.

Độ không đảm bảo đo của phép thử được tính theo công thức:

$$u^2(y) = S_L^2 + S_r^2$$

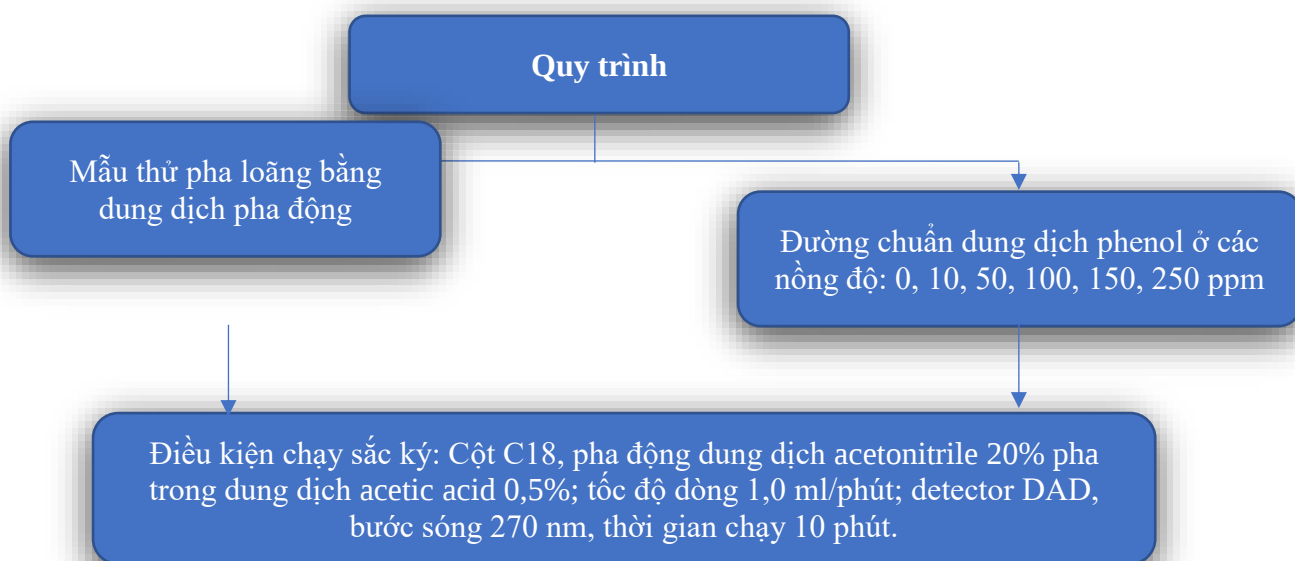
S_L^2 : phương sai ước lượng của độ lệch chuẩn tái lặp

S_r^2 : phương sai ước lượng của độ lệch chuẩn lặp lại

Độ không đảm bảo đo mở rộng $U = k * u(y)$
($k=2$ với mức độ tin cậy 95%) [5-7].

2.3. Thiết kế nghiên cứu

Sơ đồ 1. Tóm tắt quy trình



Bảng 1. Thiết kế nghiên cứu

Tiêu chí	Thiết kế	Tiêu chí đánh giá	Tiêu chuẩn
Độ lặp lại	Bố trí 1 nhóm thực hiện quy trình 9 lần lặp/mẫu thử, cùng ngày, cùng kiểm nghiệm viên, cùng lô hoá chất [3,4]	- Hệ số tương quan hồi quy R^2 , - Hàm lượng phenol của từng lần lặp trên từng mẫu, - % RSD của hàm lượng phenol của từng mẫu.	- $0,99 \leq R^2 \leq 1$ [4,8]. - Hàm lượng phenol của từng lần lặp trên từng mẫu nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ của mẫu đó [8]. - % RSD của từng mẫu $\leq 3,7 \%$ [9].
Độ tái lập trung gian	Bố trí 2 nhóm, mỗi nhóm thực hiện quy trình trên mẫu thử 6 lần/6 ngày khác nhau [3,4]	- Hệ số tương quan hồi quy R^2 , - Hàm lượng phenol của từng lần lặp trên từng mẫu, - % RSD của hàm lượng phenol của 1 nhóm, 2 nhóm.	- $0,99 \leq R^2 \leq 1$ [4,8]. - Hàm lượng phenol của từng mẫu nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ [4]. - % RSD của 1 nhóm, 2 nhóm $\leq 6,0\%$ [9].
Độ đúng	Bố trí 1 nhóm, thực hiện trên mẫu chuẩn, mẫu thêm chuẩn, mẫu 6 lần [3,4].	- Độ thu hồi (R%)	Độ thu hồi (R%): $95\% \leq R \% \leq 105\%$ [9].
Độ mạnh	Sử dụng kết quả của phần xác định độ chính xác [3, 4].	- t_{test} so sánh hai giá trị trung bình của hai nhóm.	T Stat < t Critical two-tail, không có sự khác biệt trung bình hai nhóm.
Độ đặc hiệu	Bố trí 2 nhóm, mỗi nhóm thực hiện xác định hàm lượng phenol trong mẫu không chứa phenol (Quimihib) trong 6 ngày khác nhau [3,4].	- Tín hiệu phân tích (peak phenol)	- Không có peak phenol [4]
Tính tuyến tính	Sử dụng kết quả đo quang của đường chuẩn trong xác định độ đúng [3,4].	- Hệ số tương quan hồi quy R^2 , - % RSD của hàm lượng phenol tại mỗi điểm chuẩn trong các ngày khác nhau.	- $0,99 \leq R^2 \leq 1,0$ [4,8]. - Các giá trị đo được của từng điểm trên đường chuẩn phải nằm trong khoảng giá trị TB $\pm 2SD$ tại điểm đó [4].

		- Độ thu hồi (R) tại mỗi điểm chuẩn trong các ngày khác nhau.	- % RSD của hàm lượng phenol tại các điểm chuẩn có nồng độ 10; 50 ppm $\leq 7,3\%$ [9]. - % RSD của hàm lượng phenol tại các điểm chuẩn có nồng độ từ 100; 150; 250 ppm $\leq 5,3\%$ [9]. + R% các điểm chuẩn nồng độ 10; 50 ppm nằm trong khoảng 80-110% [3, 9]. + R% các điểm chuẩn nồng độ 100; 150; 250 ppm nằm trong khoảng 90-107% [3, 9].
LOQ	Sử dụng kết quả diện tích peak của đường chuẩn trong 6 ngày trong xác định tính đúng, dùng phần mềm Excel tính sai số chuẩn của phương trình đường chuẩn và độ dốc của đường chuẩn [3,4].	- Độ chính xác và độ đúng tại LOQ	- LOQ là nồng độ pha loãng nhỏ nhất thỏa mãn độ chính xác và độ đúng theo AOAC phụ lục F tại nồng độ đó [4, 9].
Ước lượng độ KĐB đo: sử dụng số liệu thu được trong phần xác định độ chính xác [5-7]			

2.4. *Vật liệu, hoá chất*

2.4.1. *Mẫu thử*

Vắc xin Thương hàn Vi nhà sản xuất DAVAC, vắc xin Quimihib nhà sản xuất C.I.G.B - Cu Ba; dung dịch phenol chuẩn 1,4 mg/ml: 30 ml hóa chất gốc: Phenol (hãng LabChem). Mẫu thêm chuẩn (vắc xin thương

hàn Vi + dung dịch phenol chuẩn 1,4 mg/ml tỷ lệ 1:1): 15 ml.

2.4.2. *Hoá chất:*

Acetic acid (hãng Merck), acetonitrile(hãng Merck), phenol standard (hãng LabChem), nước deion.

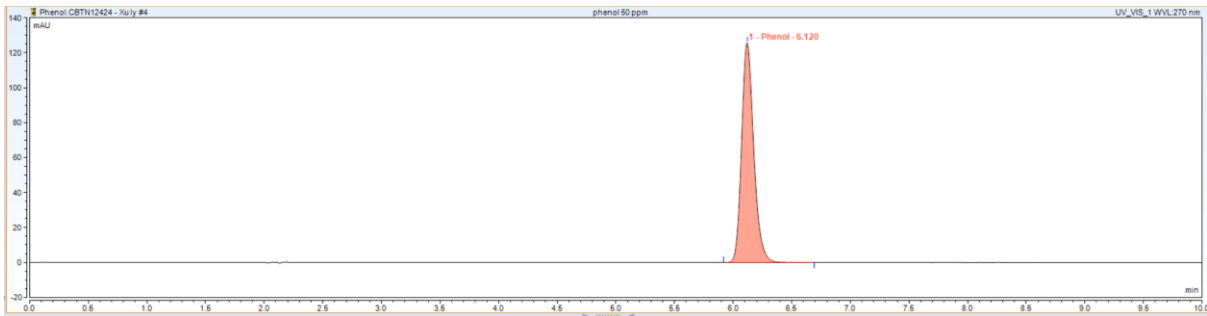
2.4.3. *Thiết bị*

Micro pipet 1-10 ml, 500-5000 µl, 100-1000 µl, 20-200 µl, 10-100 µl hãng Eppendorf,

Hệ thống sắc ký Thermo Scientific, đầu dò DAD; cột phân tích C18 và tiền cột tương ứng. Hệ thống đã được đánh giá IQ, OQ, PQ.

3. Kết quả

3.1.Tính chính xác



Hình 1. Hình ảnh sắc ký đồ peak phenol

3.1.1. Độ lặp lại

Bảng 2. Kết quả độ lặp lại trên mẫu Thương hàn Vi

Lần lặp	1	2	3	4	5	6	7	8	9
HL Phenol (mg/liều)	0,670	0,670	0,673	0,686	0,683	0,679	0,678	0,676	0,681
TB	0,677								
SD	0,0056								
RSD (%)	0,83								
TB-2SD	0,666								
TB+2SD	0,689								

Bảng 2 cho thấy: sau khi phân tích mẫu Thương hàn Vi lặp lại 9 lần cùng ngày, cùng kiểm nghiệm viên, cùng lô hoá chất thu được kết quả hàm lượng phenol đều nằm trong khoảng TB±2SD (0,666 – 0,689) với giá trị nhỏ nhất là 0,670, giá trị lớn nhất là 0,686. Giá trị % RSD của hàm lượng phenol trong mẫu thử là 0,83% < 3,7%.

Quy trình đạt về độ lặp lại.

3.1.2. Độ tái lập trung gian

Bảng 3. Kết quả độ chính xác trung gian

Nhóm 1					Nhóm 2				
Lần TN	HL Phenol (mg/liều)	TB	SD	% RSD	Lần TN	HL Phenol (mg/liều)	TB	SD	% RSD
1	0,670	0,670	0,0002	0,03	1	0,665	0,665	0,0001	0,02
	0,670					0,665			
2	0,669	0,670	0,0010	0,15	2	0,684	0,681	0,0044	0,65
	0,670					0,677			

3	0,665	0,665	0,0001	0,01	3	0,684	0,681	0,0040	0,58
	0,665					0,679			
4	0,673	0,672	0,0009	0,13	4	0,684	0,685	0,0018	0,26
	0,672					0,686			
5	0,671	0,670	0,0006	0,09	5	0,688	0,687	0,0012	0,17
	0,670					0,686			
6	0,676	0,674	0,0016	0,23	6	0,687	0,688	0,0017	0,24
	0,673					0,690			
TB		0,670			TB		0,681		
SD		0,0032			SD		0,0084		
%RSD		0,47			%RSD		1,23		
TB-2SD		0,664			TB-2SD		0,664		
TB+2SD		0,677			TB+2SD		0,698		
TB chung					0,676				
SD chung					0,0083				
%RSD chung					1,23				
TB-2SD chung					0,659				
TB+2SD chung					0,692				

Bảng 3 cho thấy: hàm lượng phenol của hai nhóm trong cùng một ngày và trong các ngày khác nhau đều nằm trong khoảng TB $\pm$ 2SD. Giá trị % RSD trong cùng ngày đều < 1% và trong các ngày khác nhau, các nhóm khác nhau đều < 2,0%, trong đó các giá trị % RSD nhỏ nhất là 0,02%, lớn nhất là 1,23%. Các giá trị này đều nhỏ hơn giới hạn chấp thuận (< 3% đối với mẫu trong cùng ngày thử nghiệm, < 6% đối với mẫu khác ngày và khác nhóm thực hiện).

Quy trình đạt về độ chính xác trung gian.

3.2. Độ đúng

Bảng 4. Độ thu hồi của dung dịch phenol 1,4 mg/ml

Ngày thực hiện	Hàm lượng phenol (mg/liều)		Độ thu hồi (R %)
	Thương hàn Vi	Thương hàn Vi thêm chuẩn	
02/03/2023	0,665	0,674	103,98
07/03/2023	0,681	0,670	99,96
09/03/2023	0,681	0,672	100,32
14/03/2023	0,685	0,672	100,75
15/03/2023	0,687	0,677	100,00
16/03/2023	0,688	0,671	98,74
TB	0,681	0,673	100,63
SD	0,00845	0,0025	1,7749
TB+2SD	0,698	0,678	104,17
TB-2SD	0,664	0,668	97,08
%RSD	1,24	0,37	1,76

Bảng 4 cho thấy: Hàm lượng phenol trong mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn đều nằm trong khoảng TB $\pm$ 2SD. Độ thu hồi của dung dịch phenol 1,4 mg/ml được thêm vào mẫu thử của các

ngày R% có giá trị từ 98,74% đến 103,98% đều nằm trong khoảng giới hạn chấp thuận ($95\% \leq R\% \leq 105\%$), đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn AOAC.

Quy trình đạt yêu cầu về tính đúng.

3.3. Độ mạnh

Bảng 5. So sánh phương sai hai nhóm

F-Test Two-Sample for Variances

	0,670	0,665
Mean	0,670	0,684
Variance	0,0000112	1,08E-05
Observations	5	5
df	4	4
F	1,04	
P(F<=f) one-tail	0,49	
F Critical one-tail	6,39	

F = 1,04 < F critical one-tail = 6,39, không có sự khác biệt giữa phương sai hai nhóm.

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

	0,670	0,665
Mean	0,670	0,684
Variance	0,0000112	1,08E-05
Observations	5	5
Pooled Variance	1,1E-05	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	8	
t Stat	-6,77	
P(T<=t) one-tail	7,10864E-05	
t Critical one-tail	1,86	
P(T<=t) two-tail	0,08	
t Critical two-tail	2,31	

- P two tail > 0,05 tại mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$ tức là độ tin cậy 95%.

T Stat = - 6,77 < t Critical two-tail = 2,31, không có sự khác biệt trung bình hai nhóm.

Tiến hành so sánh bộ số liệu thu được của 2 nhóm trên mẫu Thương hàn Vi từ phần tính chính xác trung gian kết quả cho thấy không có sự khác biệt hàm lượng phenol giữa hai nhóm. Quy trình đạt về độ mạnh.

3.4. Độ đặc hiệu

Sau khi 2 nhóm, mỗi nhóm thực hiện xác định hàm lượng phenol trong mẫu Quimihib trong 6 ngày khác nhau thu được kết quả tất cả các mẫu đều không xuất hiện peak của phenol. Quy trình đạt về độ đặc hiệu.

3.5. Tính tuyến tính

Bảng 6. Diện tích peak của các điểm chuẩn trong các ngày thử nghiệm

Đ/c (ppm)	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	TB	SD	TB-2SD	TB+2SD	RSD
10	3,267	3,248	3,253	3,329	3,316	3,268	3,280	0,0339	3,212	3,348	1,034
50	16,517	16,483	16,366	16,076	16,125	16,256	16,304	0,1831	15,938	16,670	1,123
100	33,067	32,662	32,534	32,779	32,236	32,568	32,641	0,2763	32,088	33,194	0,846
150	49,257	49,861	49,692	49,786	49,001	48,989	49,431	0,3974	48,636	50,226	0,804
250	80,503	83,042	82,371	82,349	82,326	82,159	82,125	0,8514	80,422	83,828	1,037
R ²	0,999	1,000	1,000	0,999	0,999	1,000					

Bảng 7. Độ thu hồi của các điểm chuẩn trong các ngày thử nghiệm

Đ/c (ppm)	Ngày 1		Ngày 2		Ngày 3		Ngày 4		Ngày 5		Ngày 6	
	C _t	R %	C _t	R %	C _t	R %	C _t	R %	C _t	R %	C _t	R %
10	8,71	87,06	8,65	86,47	8,66	86,63	8,90	89,0	8,86	88,59	8,71	87,09
50	49,86	99,72	49,76	99,51	49,39	98,79	48,49	97,0	48,64	97,29	49,05	98,10
100	101,27	98,73	100,01	99,99	99,61	99,61	100,37	99,6	98,69	98,69	99,72	99,72
150	151,56	98,96	153,43	97,71	152,91	98,06	153,20	97,9	150,76	99,49	150,72	99,52
250	248,61	99,44	256,49	97,40	254,41	98,24	254,34	98,3	254,27	98,29	253,75	98,50

Bảng 6 và 7 cho thấy: các giá trị hàm lượng phenol của các điểm chuẩn qua 6 lần lặp đều nằm trong khoảng TB±2SD. %RSD tại mỗi điểm chuẩn có giá trị nằm trong khoảng từ 0,804% đến 1,123% nằm trong giới hạn cho phép theo AOAC (đối với điểm 10, 50 ppm %RSD ≤ 7,3%; đối với điểm 100; 150; 250 ppm %RSD ≤ 5,3%). Độ thu hồi tại mỗi điểm chuẩn thu được giá trị R% nằm trong khoảng từ 86,47% đến 99,99% nằm trong giới hạn cho phép (R% các điểm chuẩn nồng độ 10; 50 ppm nằm trong khoảng 80 -

110%, R% các điểm chuẩn nồng độ 100; 150; 250 ppm nằm trong khoảng 90 - 107%). Quy trình đạt về tính tuyến tính với khoảng tuyến tính từ 10 đến 250 ppm.

3.7. Giới hạn định lượng LOQ

- Sử dụng phần mềm Excel với công thức tính ở phần phương pháp nghiên cứu thu được LOQ = 9,47 (ppm).
- Xác nhận lại giá trị LOQ:
- + Pha loãng mẫu tới nồng độ LOQ tương đương 9,47 ppm. Thực hiện kiểm tra lại độ tái lập và độ đúng

+. Kết quả đạt về độ thu hồi nằm trong khoảng từ 99,35% đến 100,63%, đạt theo tiêu chuẩn AOAC tại nồng độ LOQ ($80\% \leq R\% \leq 110\%$). Độ chính xác có %RSD từ 0,52% đến

0,98% nằm trong khoảng tiêu chuẩn chấp thuận theo AOAC ($\%RSD \leq 7,3\%$).
Vậy LOQ của quy trình là: 9,47 ppm.

3.8. Ước lượng độ không đảm bảo đo

Bảng 8. Kết quả ước lượng độ không đảm bảo đo trên mẫu Thương hàn Vi

Lần lặp Nhóm	Hàm lượng phenol trong mẫu thương hàn Vi polysaccharide (mg/liều)							
	1	2	3	4	5	6	TB	SD
1	0,670	0,670	0,665	0,672	0,670	0,674	0,670	0,0030
2	0,665	0,681	0,681	0,685	0,687	0,688	0,681	0,0084
TB chung					0,676			
S^2_{Tj} phương sai lặp lại					0,000040			
S^2_{Rj} phương sai tái lặp					0,000094			
$u_{(y)}$ độ không đảm bảo đo của phép thử					0,012			
U (độ không đảm bảo đo mở rộng) (mg/liều)					0,024			

4. Bàn luận

Phương pháp sắc ký pha đảo (RP-HPLC) có dung môi (pha động) phân cực và cột (pha tĩnh) không hoặc ít phân cực. Trong quy trình này chúng tôi sử dụng pha động là dung môi hỗn hợp acetonitrile và acetic acid, pha tĩnh cột C18 có cấu trúc phân tử octadecylsilane (18 nguyên tử carbon) liên kết với các hạt silica, sự lưu giữ chất tỷ lệ thuận với số lượng nguyên tử carbon, theo đó cột C18 có khả năng lưu giữ phân tử chất nhiều hơn so với cột C8 hay C4. Khả năng lưu giữ phân tử tốt dẫn đến thời gian lưu dài hơn. Hệ số kéo đuôi (Tf) thể hiện sự cân xứng của peak, hệ số Tf = 1 peak ở trạng thái cân xứng nhất. Số đĩa lý thuyết (N) thể hiện khả

năng phân tách của cột, N càng cao khả năng phân tách của cột càng tốt.

Nồng độ dung dịch phenol 1,4 mg/ml được sử dụng cho đánh giá tính thích hợp của hệ thống bởi theo quy định của ICH tính thích hợp của hệ thống phải đánh giá trên dung dịch chuẩn. Lý do sử dụng dung dịch phenol 1,4 mg/ml để thêm vào mẫu Thương hàn vi bởi quy trình thẩm định yêu cầu thêm chuẩn tại nồng độ tương đương với nồng độ mẫu thử.

Vắc xin Quimihib - Cuba được sử dụng cho phần chứng minh tính đặc hiệu của quy trình do Quimihib không sử dụng phenol làm chất bảo quản và vắc xin này có kháng nguyên bản chất là polysaccharide tương tự như kháng nguyên Vi có trong vắc xin Thương hàn Vi, đây là thành phần quan trọng bậc nhất đối với một vắc xin.

Vắc xin Typhim Vi có chứa phenol làm chất bảo quản và chưa được đề cập tới trong quy trình tuy nhiên vì nền mẫu và bản chất kháng nguyên tương tự như Thương hàn Vi nên chúng tôi chỉ tiến hành thẩm định và tính độ không đảm bảo đo trên vắc xin Thương hàn Vi và độ pha loãng mẫu khuyến cáo cho vắc xin Typhim Vi là 20 lần.

Giới hạn định lượng (LOQ) của quy trình là 9,47 ppm phù hợp sử dụng vì giới hạn này thấp hơn điểm nhỏ nhất của đường chuẩn (10 ppm).

Độ không đảm bảo đo của mẫu Thương hàn Vi là 0,024 mg/liều chiếm 3,6% so với kết quả hàm lượng phenol trung bình trong mẫu, giá trị này có thể chấp nhận và phù hợp với kết quả kiểm định.

5. Kết luận

Chúng tôi đã hoàn thành thẩm định quy trình với việc xác định được độ chính xác (độ lặp lại 0,83%, độ tái lặp 1,23%), độ đúng (độ thu hồi R%: 100,63%) các tiêu chí này đều phù hợp với tiêu chuẩn AOAC, chứng minh quy trình đạt yêu cầu về độ mạnh độ mạnh, độ đặc hiệu, tính tuyến tính với giới hạn định lượng (LOQ) là 9,47 ppm và xác định độ không đảm bảo đo đối với vắc xin Thương hàn Vi là 0,24 µg/liều.

Như vậy, quy trình xác định hàm lượng phenol trong vắc xin có giá trị và phù hợp với mục đích sử dụng tại Khoa Kiểm định Hóa lý. Độ không đảm bảo đo mở rộng công bố đối với mẫu: $U = 0,024$ mg/liều với độ tin cậy 95 %.

Tài liệu tham khảo

- [1] FDA, “Thimerosal and Vaccines”, page 1.
- [2] The relative toxicity of compounds used as preservatives in vaccines and biologics” - David A. Geier^{1ABCDEFG}, Sarah K. Jordan^{2BE}, Mark R. Geier^{2ABCDEFG}.
- [3] Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế, SOP KĐQG 34: Hướng dẫn thẩm định phương pháp, trang 17-20.
- [4] Trần Cao Sơn. Thẩm định phương pháp trong phân tích hóa học và vi sinh”. Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật Hà Nội, trang 16-35.
- [5] Tổng cục đo lường tiêu chuẩn chất lượng, TCVN 9595-3:2013: Độ không đảm bảo đo – Phần 3: Hướng dẫn trình bày độ không đảm bảo đo.
- [6] TCVN 10861:2015 (ISO 21748:2010): *Hướng dẫn ước lượng độ lặp lại, độ tái lặp và độ đúng trong ước lượng độ không đảm bảo đo.*
- [7] ISO 21748:2010: *Guide for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty in measurement estimation.*
- [8] Tạ Thị Thảo, 2006. Thống kê trong Hóa phân tích. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội.
- [9] AOAC Peer-Verified Methods Program, Manual on Policies and Procedures (1998), AOAC

INTERNATIONAL, Gaithersburg,
MD.Phụ lục F, page 9.