

RESEARCH ON APPLICATION OF SERAZYM KIT FOR DETERMINATION OF RESIDUAL BOVINE SERUM ALBUMIN (BSA) IN VACCINE

Nguyen Viet Anh*, Do Thi Hong Anh, Nguyen Thi Ha, Tran Thi Phuong, Nguyen Thi Ly

National Institute for Control of Vaccines and Biologicals

Received 13 March 2025

Accepted 24 March 2025

Abstract: Bovine Serum Albumin (BSA) is a component that has been used widely in vaccine and biological procedure. However, it is also a component that can cause allergy for human use, therefore, it is necessary to ensure residual BSA in vaccine and biological products in the acceptable range for quality control and safety of a product before distribution. In National Institute for Control of Vaccines and Biologicals (NICVB), *Serazym Bovine Serum Albumin (BSA) sensitive* kit is used to determine residual BSA in different vaccines. To use this kit in routine test, procedure validation is needed to ensure the suitability of this kit in BSA determination with criteria of accuracy, repeatability, intermediate precision, and linearity indicators. In 6 performance for accuracy indicator, t value was between 0,24 and 1,04 which was smaller than t_{α} in student distribution at $P=0,95$ ($t_{\alpha}=2,447$), coefficient of variations of repeatability and intermediate precision corresponding were 2,21% and 2,99%, which were not greater than 10%, and for linearity, recovery at each point was in the range $\pm 7,80\%$, smaller than validation standard ($\pm 15\%$). The results showed that the kit met the set standards with high reliability and can be applied in quality control.

Keywords: *Bovine serum albumin (BSA), ELISA method, procedure validation*

* Corresponding author:

E-mail address: anhv.3010@gmail.com

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v5i1.199>

NGHIÊN CỨU ÁP DỤNG BỘ SINH PHẨM SERAZYM ĐỂ XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG BOVINE SERUM ALBUMIN (BSA) TỒN DƯ TRONG VẮC XIN

Nguyễn Việt Anh*, Đỗ Thị Hồng Ánh, Nguyễn Thị Hà, Trần Thị Phương, Nguyễn Thị Lý

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

Nhận ngày 13 tháng 03 năm 2025

Chấp nhận đăng ngày 24 tháng 03 năm 2025

Tóm tắt: Bovine Serum Albumin (BSA) được sử dụng khá phổ biến trong sản xuất vắc xin, sinh phẩm. Tuy nhiên, đây là thành phần có thể gây dị ứng đối với người sử dụng, nên việc đảm bảo lượng BSA tồn dư có trong vắc xin và sinh phẩm nằm trong khoảng tiêu chuẩn cho phép là một trong những thử nghiệm cần thiết cần thực hiện để kiểm định chất lượng cũng như độ an toàn của sản phẩm. Bộ sinh phẩm *Serazym Bovine Serum Albumin (BSA) sensitive* được sử dụng tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB) để xác định hàm lượng BSA cho nhiều loại vắc xin. Để đưa bộ kit này vào thử nghiệm thường quy cần đánh giá, nghiên cứu thẩm định quy trình theo các tiêu chí độ đúng, độ lặp lại, độ chính xác trung gian, và độ tuyến tính. Trong 6 lần thực hiện tiêu chí độ đúng, giá trị t nằm trong khoảng 0,24 đến 1,04, nhỏ hơn t_{α} tại $P=0,95$ ($t_{\alpha}=2,447$), hệ số biến thiên CV trong tiêu chí độ lặp lại và độ chính xác trung gian lần lượt là 2,21% và 2,99%, đều nhỏ hơn 10%, và đối với độ tuyến tính, độ thu hồi tại mỗi điểm dao động trong khoảng $\pm 7,80\%$, thấp hơn tiêu chuẩn thẩm định ($\pm 15\%$). Kết quả cho thấy, bộ kit đạt tiêu chuẩn các chỉ tiêu đề ra với độ tin cậy cao và có thể ứng dụng trong kiểm định.

Từ khóa: Bovine serum albumin (BSA), phương pháp ELISA, thẩm định quy trình.

1. Đặt vấn đề

Vắc xin là một chế phẩm sinh học cung cấp khả năng miễn dịch chủ động cho người và động vật với một bệnh truyền nhiễm cụ thể. Cơ chế hoạt động của vắc xin là đưa kháng nguyên gây bệnh vào cơ thể để cơ thể nhận biết và sản sinh kháng thể chống

lại kháng nguyên đó. Từ đó, cơ thể có khả năng miễn dịch khi mầm bệnh xâm nhập [1,2]. Ngoài thành phần chính là kháng nguyên hay hoạt tính được chế tạo từ một hay một phần của vi sinh vật, trong vắc xin còn có các thành phần hỗ trợ được thêm vào nhằm mục đích tăng cường độ bền, khả năng

tạo miễn dịch, cũng như tăng tuổi thọ cho vắc xin [1-3]. Một số thành phần được thêm vào vắc xin như muối nhôm, chất bảo quản (Thiomersal), chất ổn định (Gelatine), chất ổn định (Polysorbate, hay sorbitol). Ngoài ra, trong vắc xin còn một số thành phần tồn dư trong quá trình sản xuất như môi trường nuôi cấy tế bào, một số thành phần bất hoạt dùng để diệt vi rút hay kháng sinh để tránh sự phát triển của vi khuẩn [3].

Albumin huyết thanh bò hay còn gọi là BSA (Bovine Serum Albumin) được sử dụng trong quy trình sản xuất vắc xin và sinh phẩm y tế. Đây là một protein bổ sung quan trọng trong môi trường nuôi cấy, góp phần quan trọng trong các quá trình vận chuyển, chuyển hóa và phân phối các phân tử nhỏ [4]. Ngoài ra, BSA cũng được dùng làm chất chuẩn cho thử nghiệm protein huyết thanh, thử nghiệm Biuret do protein này dễ kiểm, không đắt tiền và thể hiện tính tuyến tính rõ ràng và tốt nhất. Tuy nhiên, BSA cũng có thể gây một số tác dụng phụ nhẹ cho người sử dụng vắc xin có chứa thành phần này như dị ứng, ngứa, nổi mề đay hoặc trong một số trường hợp hiếm gặp là phản ứng phản vệ [2,4]. Hầu hết các vắc xin sống giảm độc lực (ví dụ như vắc xin thủy đậu Varilrix, vắc xin rota Rotarix hay vắc xin sởi-quai bị- rubella phối hợp MMR) hay vắc xin bất hoạt được sản xuất trên tế bào (như vắc xin dại

Abhayrab, Speeda hay Verorab) sẽ chứa một lượng BSA tồn dư nhất định trong quá trình sản xuất và trong bán thành phẩm. Vì vậy, trước khi sản xuất thành phẩm, vắc xin sẽ được tinh sạch để giảm thiểu lượng BSA tồn dư để tránh những phản ứng không mong muốn [3,7,8]. Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) cũng kiến nghị hàm lượng BSA tồn dư trong các vắc xin như vắc xin dại (Verorab, Abhayrab) phải nhỏ hơn 50ng/ liều và đối với vắc xin thủy đậu (Varivax) phải nhỏ hơn 500ng/ liều và việc xác định hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin là một tiêu chí để đánh giá chất lượng vắc xin cũng như giảm thiểu rủi ro không mong muốn đối với người sử dụng [7-8].

Hiện nay, có nhiều loại phương pháp để xác định hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin nhưng ELISA là phương pháp được sử dụng rộng rãi và phổ biến nhất. Phương pháp này không những tiết kiệm thời gian và hóa chất, mà còn có khả năng phát hiện hàm lượng BSA với nồng độ thấp [4-6]. Ngoài ra, có nhiều bộ sinh phẩm thương mại dùng để xác định hàm lượng BSA tồn dư như BSA ELISA kit (Cynus Technologies), Bovine Serum Albumin (BSA) ELISA kit (Abbexa). Tại khoa Kiểm định Vắc xin Vi rút, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB), bộ sinh phẩm *Serazym Bovine Serum Albumin (BSA) sensitive* (Seramun,

Đức) được sử dụng trong thử nghiệm xác định hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin [9]. Vì vậy, để dùng bộ kit này trong thử nghiệm thường quy, việc thẩm định đánh giá khả năng phù hợp và độ tin cậy của bộ kit đối với các vắc xin đang được lưu hành là cần thiết và quan trọng [10-11].

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Quy trình thử nghiệm xác định hàm lượng Bovine Serum Albumin (BSA) tồn dư theo bộ kit *Serazym Bovine Serum Albumin (BSA) sensitive*

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: Từ tháng 01/2024 đến tháng 08/2024

- Địa điểm: Phòng thí nghiệm của khoa kiểm định vắc xin Vi rút, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB).

2.3. Vật liệu, hóa chất

- Vật liệu: Bộ sinh phẩm *Serazym Bovine Serum Albumin (BSA) sensitive* (Seramun, Đức) mã E-108, nước cất (NICVB).

- Mẫu thử: vắc xin thủy đậu Varivax.

- Mẫu chứng âm: Nước cất (NICVB), dung dịch pha loãng mẫu (Seramun)

- Trang thiết bị và vật tư tiêu hao: Máy lắc (IKA), máy rửa phiến ELISA (Hurman), máy đọc và in ELISA (Hurman), tủ lạnh bảo

quản mẫu (Panasonic), pipet đơn kênh 200 μ L, 1000 μ L (Eppendorf), pipet đa kênh tự động (Satorius), tuýp nhựa 2ml (Eppendorf), đầu côn (Eppendorf), máng dùng 1 lần (Costar), pipet nhựa vô trùng (Costar), giấy dán phiến (Sigma Aldrich), bút viết kính (Việt Nam), giá đựng tuýp (Việt Nam), panh (Việt Nam), kéo (Việt Nam).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp mô tả thực nghiệm.

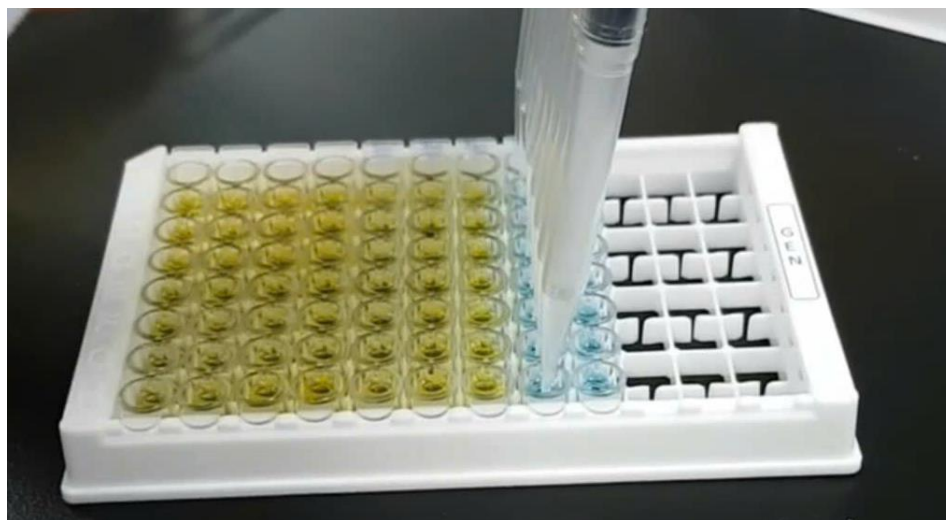
Thẩm định quy trình xác định hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin một phần.

2.4.1. Tóm tắt quy trình thử nghiệm xác định hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin [9-10]

Nhỏ 100 μ l/giếng kháng thể cộng hợp (CONJ HRP) vào tất cả các giếng rồi nhỏ 100 μ l/ giếng các mẫu chuẩn, mẫu vắc xin thử nghiệm, chứng dương và chứng âm (mẫu trắng), mỗi độ pha nhỏ 2 giếng trên phiến ELISA. Đậy phiến và ủ ở nhiệt độ phòng (khoảng 20-25°C) trong 60 phút sau đó rửa phiến 5 lần với dung dịch rửa 1X, thể tích rửa 300 μ l/giếng. Để các giếng khô hoàn toàn rồi nhỏ 100 μ l cơ chất TMB vào tất cả các giếng, ủ phiến trong 15 phút ở nhiệt độ phòng (khoảng 20-25°C), tránh ánh sáng, sau đó thêm 100 μ l dung dịch dừng phản ứng vào tất cả các giếng, lắc nhẹ. Đo độ hấp phụ quang (Optical Density- OD) ở bước sóng 450nm/620nm trong vòng 30 phút sau khi dừng phản ứng. Hàm lượng BSA tồn dư

trong vắc xin được xác định bằng đường chuẩn và phần mềm excel để tính toán dựa vào kết quả đo OD. Thử nghiệm có giá trị khi giá trị OD của mẫu chuẩn có nồng độ 50 ng/ml $\geq 1,50$ và của mẫu chuẩn có nồng độ

2,5 ng/ml $\leq 0,50$ và đồ thị tuyến tính của mẫu chuẩn có hệ số tương quan $R^2 \geq 0,97$. Đối với mẫu thử thủy đậu, hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin không được vượt quá 1 μ g/ml hay 500 ng/liều.



Hình 1. Bước nhỏ dung dịch dừng phản ứng vào các giếng trước khi đọc kết quả

2.4.2. *Xác định tiêu chí độ đúng của quy trình thẩm định thử nghiệm xác định hàm lượng BSA tồn dư [11]*

Độ đúng được xác định bằng cách xác định hàm lượng BSA của chứng dương (Control) có trong bộ kit đã biết trước hàm lượng: 25 ng/ml. Chứng dương được pha loãng thành các nồng độ 20ng/ml, 10ng/ml, 5ng/ml và 2,5ng/ml. Thử nghiệm được thực hiện bởi cùng 1 nhóm thực hiện, trong cùng điều kiện trang thiết bị, hóa chất, nguyên vật liệu và thực hiện 6 lần vào 6 ngày khác nhau. Sau khi tính nồng độ/ hàm lượng trung bình của mẫu chuẩn tại mỗi độ pha (X_{tb}), so sánh kết quả thu được với giá trị đã biết

trước của mẫu chuẩn (X_{mc}), tính t và so sánh với giá trị t_{α} của bảng phân bố student tại mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$ (độ tin cậy 95%) [8]. Tiêu chuẩn chấp thuận khi $t < t_{\alpha}$.

$$t = \frac{|X_{tb} - X_{mc}|}{s/\sqrt{n}}$$

Trong đó: s - Độ lệch chuẩn

n - Số thử nghiệm

2.4.3. *Xác định tiêu chí độ chính xác của quy trình thẩm định thử nghiệm xác định hàm lượng BSA tồn dư [11]*

Độ chính xác đối với thử nghiệm được xác định tại hai mức: độ lặp lại và độ chính xác trung gian.

Độ lặp lại được thực hiện 6 lần trong cùng một ngày với 5 độ pha loãng 1/10,

1/20, 1/30, 1/40, 1/50 của vắc xin mẫu thử bởi cùng một nhóm, cùng điều kiện trang thiết bị, hóa chất, nguyên liệu.

Độ chính xác trung gian được thực hiện bởi cùng một nhóm với 5 độ pha loãng của vắc xin mẫu thử như độ lặp lại trong 5 ngày khác nhau.

Tiêu chuẩn chấp thuận của tiêu chí độ chính xác của quy trình thẩm định là hệ số biến thiên CV <10%.

2.4.4. *Xác định tiêu chí độ tuyến tính của quy trình thẩm định thử nghiệm xác định hàm lượng BSA tồn dư [11]*

Độ tuyến tính của một quy trình là khả năng kết quả cho ra tỉ lệ thuận với lượng chất có trong mẫu. Sử dụng kết quả của tiêu chí độ đúng để tính phương trình hồi quy

đơn biến ($y=ax+b$) và hệ số tương quan (R^2) của từng ngày thử nghiệm. Tính độ thu hồi tại mỗi điểm chuẩn (Δi). Tiêu chuẩn chấp thuận của tiêu chí độ tuyến tính là $R^2 >0,97$, hệ số biến thiên $CV \leq 20\%$ và Δi nằm trong khoảng $\pm 15\%$ so với giá trị lý thuyết.

$$\Delta i = \frac{(\text{giá trị thực} - \text{giá trị lý thuyết}) \times 100}{\text{giá trị lý thuyết}}$$

3. Kết quả

3.1. Độ đúng

Độ đúng của thử nghiệm được tiến hành 6 lần vào 6 ngày khác nhau trên mẫu chuẩn BSA đã biết trước hàm lượng 25ng/ml, được pha loãng ra các nồng độ 20 ng/ml, 10ng/ml, 5ng/ml và 2,5ng/ml. Kết quả 6 lần thực hiện được tổng hợp trong bảng dưới đây.

Bảng 1. Kết quả tiêu chí độ đúng của thử nghiệm xác định hàm lượng BSA

Lần thực hiện	Hàm lượng BSA của chất chuẩn (ng/ml)				
	$X_{mc} = 25,0$	$X_{mc} = 20,0$	$X_{mc} = 10,0$	$X_{mc} = 5,0$	$X_{mc} = 2,5$
01	24,57	25,03	25,69	24,06	24,71
02	25,43	24,47	25,63	23,06	24,42
03	25,52	25,50	26,00	23,90	26,26
04	24,65	25,59	24,38	23,65	25,32
05	24,88	24,97	25,50	26,94	25,98
06	24,73	23,83	23,90	25,44	24,99
AVG	24,96	24,90	25,18	24,51	25,28
SD	0,37	0,60	0,77	1,30	0,66
CV	1,50	2,43	3,04	5,32	2,60
t	0,24	0,41	0,59	0,92	1,04

Trong đó: AVG (Average): Trung bình

SD (Standard Deviation): Độ lệch chuẩn.

CV (Coefficient of Variation): Hệ số biến thiên

t: Giá trị t của từng nồng độ

Kết quả cho thấy, hàm lượng mẫu chuẩn BSA dao động trong khoảng 24,51 đến 25,28 ng/ml với hệ số biến thiên % CV thấp, dưới 5,32%. Dựa vào công thức ở phần b, mục 2.4, giá trị t tại các nồng độ lần lượt là 0,24; 0,41; 0,59; 0,92; 1,04 đều nhỏ hơn t_{α} ($t_{\alpha}= 2,447$) trong bảng phân phối student với độ tin cậy 95% [8]. Vì vậy chúng tôi có thể kết luận độ đúng của thẩm định quy trình

xác định hàm lượng BSA tồn dư đạt yêu cầu với $t < t_{\alpha}$.

3.2. Độ chính xác

Độ chính xác của quy trình được xác định bởi độ lặp lại và độ chính xác trung gian. Độ lặp lại được thực hiện với mẫu thử là vắc xin thủy đậu (Varivax) được pha loãng ra 5 nồng độ 1/10, 1/20, 1/30, 1/40 và 1/50 được thực hiện 6 lần trong cùng một ngày có kết quả như sau:

Bảng 2. Kết quả tiêu chí độ lặp lại của thử nghiệm xác định hàm lượng BSA tồn dư

Nồng độ Lần thực hiện	Hàm lượng BSA (ng/ liều)					
	1/10	1/20	1/30	1/40	1/50	AVG
1	168,55	166,53	166,44	173,26	167,21	168,40
2	188,74	173,15	173,83	188,38	164,38	177,69
3	183,20	171,05	181,15	161,41	169,80	173,32
4	173,28	170,98	167,55	168,23	169,61	169,93
5	182,97	173,61	176,96	177,99	174,84	177,27
6	176,88	176,63	171,62	175,98	175,61	175,34
AVG	178,94	171,99	172,93	174,21	170,24	173,66
SD	7,41	3,38	5,61	9,15	4,34	3,84
%CV	4,14	1,97	3,24	5,25	2,55	2,21

Trong đó: AVG (Average): Trung bình

SD (Standard Deviation): Độ lệch chuẩn

CV (Coefficient of Variation): Hệ số biến thiên

Kết quả cho thấy hàm lượng BSA tồn dư trung bình của vắc xin thủy đậu theo từng nồng độ dao động khoảng từ 170,24 đến 178,94 ng/liều, nằm trong khoảng tiêu chuẩn cho phép (< 500ng/ liều) với hệ số biến thiên %CV cao nhất là 5,25; nhỏ hơn với tiêu chuẩn của tiêu chí độ lặp lại

(%CV<10%). Đối với từng lần thực hiện, kết quả hàm lượng BSA tồn dư vẫn nằm trong khoảng cho phép của nhà sản xuất (< 500 ng/liều) và hệ số biến thiên %CV = 2,21%. Như vậy, tiêu chí độ lặp lại của quy trình thử nghiệm đạt yêu cầu.

Với cùng các nồng độ mẫu thử như vậy, tiêu chí độ chính xác trung gian được thực hiện bởi cùng một nhóm trong 5 lần vào 5 ngày khác nhau. Kết quả của thử nghiệm được tóm tắt trong bảng dưới đây:

Bảng 3. Kết quả tiêu chí độ chính xác trung gian của thử nghiệm xác định hàm lượng BSA tồn dư

Lần thực hiện \ Nồng độ	Hàm lượng BSA (ng/ liều)					
	1/10	1/20	1/30	1/40	1/50	AVG
01	168,41	166,39	170,53	169,84	164,00	167,83
02	164,38	164,16	165,26	167,65	169,94	166,28
03	168,45	169,60	173,55	177,44	181,80	174,17
04	166,44	169,68	163,96	162,36	178,25	168,14
05	173,51	165,33	183,75	185,54	183,49	178,33
AVG	168,24	167,03	171,41	172,57	175,50	170,95
SD	3,39	2,51	7,92	9,05	8,28	5,10
%CV	2,02	1,50	4,62	5,25	4,72	2,99

Trong đó: AVG (Average): Trung bình

SD (Standard Deviation): Độ lệch chuẩn

CV (Coefficient of Variation): Hệ số biến thiên

Từ bảng 3, hàm lượng BSA tồn dư trung bình trong 5 lần thực hiện nằm trong

khoảng từ 167,03 đến 178,33 ng/liều, hệ số biến thiên dao động từ 1,50% đến 5,25%,

đều nhỏ hơn 10%. Vì vậy, tiêu chí độ chính xác trung gian đạt yêu cầu.

Độ lặp lại và độ chính xác trung gian đều có hệ số biến thiên $CV < 10\%$. Vì vậy, độ chính xác của quy trình thử nghiệm xác định hàm lượng BSA tồn dư đạt yêu cầu.

3.3. Độ tuyến tính

Từ kết quả của độ đúng và dựa vào phần mềm excel, độ tuyến tính được tính toán với các chỉ số R^2 và độ thu hồi (Δ_i) tại mỗi nồng độ lần lượt được liệt kê trong bảng 4 và bảng 5 như sau:

Bảng 4. Kết quả tiêu chí độ tuyến tính của thử nghiệm xác định hàm lượng BSA tồn dư

Lần thực hiện	Hàm lượng BSA của chất chuẩn (ng/ml)					R^2
	$X_{mc} = 25,0$	$X_{mc} = 20,0$	$X_{mc} = 10,0$	$X_{mc} = 5,0$	$X_{mc} = 2,5$	
01	24,57	20,03	10,28	4,81	2,47	0,9982
02	25,43	19,58	10,25	4,61	2,44	0,9988
03	25,52	20,40	10,40	5,36	2,63	0,999
04	24,65	20,47	9,75	4,73	2,53	0,9952
05	24,88	19,98	10,20	5,39	2,60	0,9984
06	24,73	19,07	9,56	5,09	2,50	0,9987
AVG	24,96	19,92	10,07	5,00	2,53	-
SD	0,41	0,53	0,34	0,33	0,07	-
CV	1,63	2,65	3,33	6,63	2,86	-

Trong đó: AVG (Average): Trung bình

SD (Standard Deviation): Độ lệch chuẩn

CV (Coefficient of Variation): Hệ số biến thiên

R^2 : Hệ số tính hồi quy tuyến tính

Từ bảng 4, hệ số tính hồi quy tuyến tính đối với từng lần thực hiện có dao động nhỏ, đều $> 0,99$ cho cả 5 nồng độ của chất chuẩn từ 2,5ng/ml đến 25ng/ml. Tất cả các lần thực hiện đều đạt yêu cầu tiêu chí độ tuyến tính của quy trình thẩm định ($R^2 > 0,97$).

Bảng 5. Kết quả đánh giá độ thu hồi của thử nghiệm xác định hàm lượng BSA tồn dư

Lần thực hiện	Δi tại mỗi điểm chuẩn				
	X _{mc} = 25	X _{mc} = 20	X _{mc} = 10	X _{mc} = 5	X _{mc} = 2,5
01	-1,72	0,15	2,80	-3,80	-1,20
02	1,72	-2,10	2,50	-7,80	-2,40
03	2,08	2,00	4,00	7,20	5,20
04	-1,40	2,35	-2,50	-5,40	1,20
05	-0,48	-0,10	2,00	7,80	4,00
06	-1,08	-4,65	-4,40	1,80	0,00

Trong đó: Δi: Độ thu hồi tại mỗi điểm chuẩn

Trong 6 lần thực hiện thử nghiệm xác định hàm lượng BSA tồn dư, độ thu hồi tại mỗi điểm chuẩn được tính theo công thức trong phần d, mục 2.4, kết quả dao động từ -7,80 đến +7,80%, không vượt quá 15% so với giá trị lý thuyết. Vì vậy có thể khẳng định hàm lượng BSA của chất chuẩn có độ tuyến tính cao và đạt yêu cầu.

4. Bàn luận

Xác định được hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin là một trong những tiêu chí kỹ thuật để cơ quan quản lý có cơ sở đánh giá và kiểm soát chất lượng vắc xin trước khi đưa ra ngoài thị trường. Thẩm định quy trình xác định hàm lượng BSA tồn dư theo bộ kit *Serazym Bovine Serum Albumin (BSA) sensitive* (Seramun, Đức) cho thấy sự ổn

định về mặt chất lượng không những của vắc xin mà còn chất chuẩn của bộ kit [9-10].

Quy trình xác định hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin được thực hiện trên dàn máy ELISA tự động bao gồm máy ủ, máy rửa và máy đọc ELISA, được vận hành và hiệu chuẩn thường quy tại NICVB và đội ngũ cán bộ được đào tạo và đánh giá tay nghề thường xuyên. Vì vậy, kết quả thẩm định có sai số thấp, có tính chính xác và độ tin cậy cao.

Thẩm định quy trình xác định hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin được đánh giá trên các tiêu chí độ đúng, độ chính xác và độ tuyến tính [11]. Đây là ba tiêu chí quan trọng để đánh giá một bộ kit trên cả mẫu chuẩn, mẫu thử và cơ chất dựng đường chuẩn được sử dụng trong kỹ thuật ELISA. Kết quả cho thấy, hàm lượng BSA trong mẫu chuẩn dao động trong khoảng 24,51 đến

25,28 ng/ml, không có khác biệt mang ý nghĩa thống kê với hàm lượng trên nhãn của mẫu chuẩn (25,00 ng/ml) và trong mẫu thử ở các nồng độ pha loãng trong các lần thực hiện là từ 166,28 đến 178,94 ng/ liều với hệ số biến thiên nhỏ $CV < 10\%$, dao động trong khoảng 1,97% đến 5,25%, giá trị R^2 của độ tuyến tính đều $> 0,97\%$ và giá trị độ thu hồi Δi không vượt quá 15% giá trị lý thuyết.

Để xác định hàm lượng BSA tồn dư, có nhiều phương pháp được sử dụng như ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent assay), sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC (High performance liquid chromatography), điện di SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) nhưng ELISA là phương pháp được sử dụng phổ biến do dễ dàng thực hiện, không đòi hỏi nhiều hóa chất, máy móc thiết bị. Trong số nhiều bộ kit thương mại được sử dụng để xác định hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin, bộ kit *Serazym Bovine Serum Albumin (BSA) sensitive* được lựa chọn vì đây là sản phẩm của Seramun Diagnostica GmbH, Đức, một công ty chuyên sản xuất các sinh phẩm xác định hàm lượng chất tồn dư trong mẫu vắc xin như BSA hay Ovalbumin. Không những thế, bộ kit có độ nhạy cao, có giới hạn phát hiện rộng từ nồng độ 2,5ng/ml đến 50 ng/ml, thích hợp với các vắc xin được sản xuất trên tế bào hiện nay. Ngoài ra,

bộ kit có giá thành phù hợp, có khả năng thực hiện nhiều mẫu một lúc nhằm tiết kiệm thời gian, chi phí mà vẫn đảm bảo cho kết quả có độ tin cậy cao.

Quy trình xác định hàm lượng BSA tồn dư trong một số vắc xin đang được lưu hành hiện nay như vắc xin đại (Verorab-Sanofi Pasteur, Abhayrab- Human Biologicals Institute, Sppeda- Liaoning cheng da Biotechnonlogy hay Indirab-Bharat Biotech International Limited), vắc xin thủy đậu (Varivax- MSD) được thực hiện chung theo hướng dẫn của bộ kit *Serazym Bovine Serum Albumin (BSA) sensitive* phù hợp với tiêu chuẩn của từng nhà sản xuất cũng như do Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) quy định (đối với các vắc xin đại, hàm lượng BSA tồn dư không lớn hơn 50ng/liều và đối với vắc xin Varivax, hàm lượng BSA tồn dư không quá 500ng/ liều) [11]. Vì vậy, chúng tôi chỉ sử dụng vắc xin thủy đậu Varivax làm mẫu thử đại diện để có thể đánh giá khả năng định lượng BSA tồn dư ở nhiều nồng độ khác nhau sau khi pha loãng mẫu với độ nhạy và tuyến tính cao.

5. Kết luận

Các tiêu chí độ đúng, độ chính xác, và độ tuyến tính của thẩm định quy trình thử nghiệm xác định hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin đều đạt yêu cầu với hệ số biến thiên $CV < 10\%$, hàm lượng BSA trong mẫu

chuẩn và mẫu thử đều nằm trong khoảng cho phép theo tiêu chuẩn của bộ kit và nhà sản xuất. Quy trình thử nghiệm xác định hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin phù hợp với điều kiện, hóa chất và trang thiết bị tại khoa Kiểm định Vắc xin Vi rút, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế.

Tài liệu tham khảo

- [1] Pollard, A. J., & Bijker, E. M, “A guide to vaccinology: from basic principles to new developments”, Nature Reviews, Immunology, 21(2), 83–100, 2020.
- [2] WHO, “Vaccines and immunization: What is vaccination?”, December 30, 2024. Truy cập tại: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/vaccines-and-immunization-what-is-vaccination> , accessed: 06/03/2025
- [3] NCIRS, “Vaccine types and their components”, Fact sheet, 2022. Truy cập tại: <https://ncirs.org.au/sites/default/files/2022-12/Vaccine%20componenets%20fact%20sheet%20December%202022.pdf> , accessed: 06/03/2025
- [4] John W. Loughney, Catherine Lancaster, Sha Ha, Richard R. Rustandi, “Residual bovine serum albumin (BSA) quantitation in vaccines using automated Capillary Western technology”, volume 461, page 49-56, Analytical Biochemistry, 2014.
- [5] Xiaoming Zhang, Chaojun Song, Lili Chen, Kui Zhang, Aihua Fu, Boquan Jin, Zhujun Zhang, Kun Yang, “A novel immunoassay for residual bovine serum albumin (BSA) in vaccines using laser-induced fluorescence millimeter sensor array detection platform”, volume 26, Issue 9, page 3958-3961, Biosensors and Bioelectronics, 2011.
- [6] M. Granstrom, M. Eriksson, G. Edevag, “A sandwich ELISA for bovine serum in viral vaccines”, Volume 15, Issue 3, pages 193-197, Journal biological Standardization, 1987.
- [7] WHO, “Requirements for varicella vaccine (live)”, annex 1, TRS No 848, 1994. Truy cập tại: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/biologicals/vaccine-standardization/varicella/who_trs_848_a1.pdf?sfvrsn=8850d145_3&download=true, accessed: 14/03/2025
- [8] WHO, “Recommendations for inactivated rabies vaccine for human use produced in cell substrates and embryonated eggs”, annex 2, TRS No 941, 2007. Truy cập tại: <https://cdn.who.int/media/docs/default-source/biologicals/vaccine-standardization/rabies/annex-2-inactivated-rabies->

[vaccine.pdf?sfvrsn=5c23b7fb_3&download](#)

[=true](#), accessed: 14/03/2025

[9] Serazym Bovine Serum Albumin, Enzyme immunoassay for quantitative detection of bovine serum albumin, COA E-048. Truy cập tại:

[https://www.bioclot.com/COA_/COA_E-](https://www.bioclot.com/COA_/COA_E-048.pdf)

[048.pdf](https://www.bioclot.com/COA_/COA_E-048.pdf) , accessed: 17/03/2025

[10] VR 01-48: SOP: Quy trình chuẩn xác định hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin

[11] KĐQG-34: SOP: Quy trình chuẩn thẩm định quy trình, NICVB