

EVALUATION OF THE FIRST NATIONAL STANDARD DIPHTHERIA VACCINE

Vu Duy Dung*, Nguyen Duy Thai, Nguyen Phuong Lien, Bui Thi Kim Xuyen,
Nguyen Thi Hoa

National Institute for Control of Vaccines and Biologicals

Received 21 June 2024

Accepted 17 December 2024

Abstract: The efficacy testing of diphtheria vaccines is a mandatory requirement according to WHO recommendations and the standards of the Vietnamese Pharmacopoeia V. This study aims to evaluate of the first national standard diphtheria vaccine, coded MCQG.BH.01, through the analysis of the Slope value when performing efficacy testing of diphtheria vaccines using Shewhart charts. The slope value is an important index showing the slope of the standard sample graph calculated on the number of live/dead cell wells corresponding to each dilution, which is a decisive index showing us the stability of the diphtheria standard sample. The study used 21 data from 2021 to 2023. The results showed that the average Slope value was 4.251; no values fell within the action zone, no two consecutive points fell within the warning zone, and no four consecutive points were beyond the control limits. According to the evaluation criteria, there were no signs of instability trends in six or eight consecutive points. Therefore, the MCQG.BH.01 standard fully meets the requirements for stability and quality according to WHO standards, ensuring efficacy in diphtheria vaccine efficacy testing at NICVB and for manufacturers.

Keywords: Diphtheria , slope, national standard, MCQG.BH.01

* Corresponding author

E-mail address: dungduyvu@gmail.com

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v5i1.201>

ĐÁNH GIÁ VẮC XIN MẪU CHUẨN QUỐC GIA BẠCH HẦU LẦN THỨ NHẤT

Vũ Duy Dũng*, Nguyễn Duy Thái, Nguyễn Phương Liên, Bùi Thị Kim Xuyên,
Nguyễn Thị Hòa

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

Nhận ngày 21 tháng 06 năm 2024

Chấp nhận đăng ngày 17 tháng 12 năm 2024

Tóm tắt: Thử nghiệm kiểm tra công hiệu vắc xin bạch hầu là yêu cầu bắt buộc theo khuyến cáo của WHO và Dược điển Việt Nam V trong việc đảm bảo chất lượng vắc xin bạch hầu. Nghiên cứu nhằm đánh giá tính ổn định vắc xin mẫu chuẩn quốc gia bạch hầu lần thứ nhất, mã số MCQG.BH.01, thông qua phân tích chỉ số Slope khi thực hiện thử nghiệm công hiệu vắc xin bạch hầu trên đồ thị Shewhart. Chỉ số slope là chỉ số quan trọng thể hiện độ nghiêng của đồ thị mẫu chuẩn tính trên số lượng giếng tế bào sống/chết tương ứng với từng độ pha loãng, là chỉ số quyết định thể hiện cho thấy sự ổn định của mẫu chuẩn Bạch hầu. Nghiên cứu sử dụng 21 dữ liệu mẫu chuẩn từ năm 2021 đến 2023, kết quả cho thấy giá trị trung bình của Slope là 4,251; không có giá trị nằm trong vùng hành động phòng ngừa, không có hai điểm liên tiếp trong vùng cảnh báo, không có bốn điểm liên tiếp vượt ra khỏi khoảng kiểm soát, không có dấu hiệu bất ổn định trong sáu hoặc tám điểm liên tiếp theo tiêu chí đánh giá. Do vậy, mẫu chuẩn MCQG.BH.01 đáp ứng yêu cầu về tính ổn định công hiệu theo tiêu chuẩn của WHO, đảm bảo là mẫu chuẩn quốc gia trong kiểm định công hiệu vắc xin bạch hầu tại NICVB và các nhà sản xuất.

Từ khoá: Bạch hầu, chỉ số Slope, mẫu chuẩn, MCQG.BH.01

1. Đặt vấn đề

Bạch hầu (Diphtheria) là bệnh truyền nhiễm cấp tính, tác nhân gây bệnh là vi khuẩn Gram dương *Corynebacterium diphtheriae*, biểu hiện rõ rệt ở nhiều các bộ phận trên cơ thể như họng, mũi, mắt, da... Bệnh lây lan trực tiếp từ người sang người qua đường hô hấp hoặc lây gián tiếp qua việc tiếp xúc với đồ vật hay các vật dụng có dính chất bài tiết của người nhiễm vi khuẩn bạch hầu. Bệnh bạch hầu gây nhiễm khuẩn cấp tính có giả mạc ở tuyến hạnh nhân, hầu họng, thanh quản, mũi ngoài ra nó còn xuất hiện ở da, các màng niêm mạc khác như kết mạc hoặc bộ

phận sinh dục [1]. Bệnh bạch hầu từng được xem là một trong những căn bệnh có gánh nặng bệnh tật và số tử vong cao ở trẻ em tại nhiều quốc gia trên thế giới. Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) đã báo cáo tổng cộng 4490 trường hợp mắc bệnh bạch hầu trên toàn thế giới trong năm 2013, chủ yếu ở các nước đang phát triển. Tại Việt Nam, ghi nhận có 21 trường hợp mắc năm 2017, 13 trường hợp mắc năm 2018 và 53 trường hợp mắc năm 2019 [2].

Cách phòng bệnh bạch hầu tốt nhất đó là tiêm vắc xin chủ động phòng bệnh. Bắt đầu từ những năm 1920 cùng với sự phát triển

của vắc xin phòng bệnh bạch hầu và việc sử dụng rộng rãi vắc xin ở nhiều nước trên thế giới đã làm tỷ lệ mắc bệnh giảm một cách rõ rệt.

Theo quy định, để đảm bảo chất lượng của vắc xin bạch hầu trước khi cấp phép lưu hành trên thị trường thì việc kiểm tra chất lượng được coi là nền tảng bao gồm nhiều chỉ tiêu về hóa lí, vô khuẩn, an toàn, nhận dạng, công hiệu... trong đó kiểm định chất lượng công hiệu của vắc xin rất quan trọng và được kiểm tra bằng các phương pháp sinh học [3]. Xác định công hiệu vắc xin bạch hầu sử dụng động vật thí nghiệm, tế bào nuôi cấy, chủng thử thách vi sinh vật. Giá trị của các thử nghiệm này thường có sự giao động lớn hơn so với thử nghiệm hóa lí. Nguyên nhân gây ra sự chênh lệch này là do sự khác biệt sinh học của các loài tham gia thử nghiệm, sự khác nhau giữa các phòng thí nghiệm, người thực hiện kỹ thuật, trang thiết bị, phương pháp thực hiện và các nguyên vật liệu... Mẫu chuẩn quốc gia bạch hầu là thước đo chuẩn nên cần độ ổn định, sự ảnh hưởng từ độ cảm nhiễm và đáp ứng của nhóm động vật thí nghiệm được sử dụng và điều kiện thí nghiệm sẽ tác động giống nhau và đồng thời đến cả mẫu chuẩn và mẫu vắc xin nếu cả hai được thử nghiệm trong cùng một điều kiện thí nghiệm. Vì vậy thước đo đủ độ tin cậy là vắc xin mẫu chuẩn quốc gia (MCQG) cần ổn định và giá trị công hiệu phải được xác định tin cậy nhằm đánh giá kết quả của thử nghiệm có tin cậy về tính giá trị công hiệu (khả năng bảo vệ) của vắc xin chứa thành phần bạch hầu.

Mẫu chuẩn quốc gia Bạch hầu MCQG.BH.01 được thiết lập trong đề tài cấp quốc gia “*Nghiên cứu sản xuất 11 vắc xin mẫu chuẩn quốc gia dùng cho kiểm định vắc*

xin thuộc Chương trình sản phẩm quốc gia vắc xin phòng bệnh cho người” và đưa vào sử dụng năm 2021. Mỗi năm, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB) sử dụng từ 10 đến 20 ống MCQG.BH.01 để kiểm tra công hiệu rất nhiều loại vắc xin có chứa thành phần bạch hầu như: Td, DPT (Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế, IVAC – Việt Nam), Boostrix, Infanrix Hexa (GSK – Bỉ), Adacel, Tetraxim, Pentaxim, Hexaxim (Sanofi Pasteur - Pháp)... Trong thử nghiệm này, công hiệu thành phần bạch hầu được tính dựa trên kết quả mẫu chuẩn. Trong đó, giá trị công hiệu của MCQG.BH.01 đã được ấn định là 513 IU/ống (kết quả thu được khi thiết lập mẫu chuẩn quốc gia bạch hầu lần thứ nhất) [4]. Việc thực hiện phân tích, đánh giá loạt mẫu chuẩn này được thực hiện thông qua phân tích chỉ số Slope đánh giá tính ổn định. Thử nghiệm công hiệu vắc xin bạch hầu tiến hành trên chuột nhắt với các độ pha loãng mẫu chuẩn và mẫu thử sẽ được tiêm trên chuột nhắt giống ICR để gây miễn dịch sau đó chuột được nuôi sau 35 ngày sẽ lấy máu và chuẩn độ huyết thanh chuột trên tế bào Vero [5]. Công hiệu của vắc xin thử được tính dựa trên số giếng tế bào còn sống của từng độ pha trong các độ pha của vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử, tính theo chương trình Parallel line sẽ có được đường cong đáp ứng liều thu được từ vắc xin chuẩn và vắc xin thử qua vẽ đồ thị giữa các liều vắc xin với điểm đáp ứng của hiệu giá, công hiệu của vắc xin thử được tính theo parallel line. Chỉ số slope là chỉ số quan trọng thể hiện độ nghiêng của đồ thị mẫu chuẩn được tính trên số lượng các

giếng tế bào sống/chết tương ứng với từng độ pha loãng. Nếu chỉ số slope quá lớn thì dù ở độ pha loãng nào của mẫu chuẩn thì kết quả vẫn sẽ quá cao vượt ngưỡng còn nếu khi chỉ số slope quá nhỏ thì kết quả thu được ở mọi độ pha loãng của mẫu chuẩn cũng sẽ giống nhau. Chỉ số slope phụ thuộc: Chất lượng tế bào Vero, chất lượng chuột, vật tư hóa chất, độ pha loãng mẫu, tay nghề của nhân viên... trong đó tế bào vero và chuột được cung cấp có hồ sơ chất lượng ổn định. Chính vì thế slope là chỉ số quyết định thể hiện cho ta thấy sự ổn định của mẫu chuẩn Bạch hầu.

Do có vai trò quan trọng quyết định đến công hiệu của vắc xin bạch hầu nên việc đánh giá tính ổn định của vắc xin mẫu chuẩn là nhu cầu cần thiết. Việc nghiên cứu tính ổn định về công hiệu có thể xác định được mẫu chuẩn có đơn vị công hiệu ổn định qua thời gian bảo quản. Qua đó ta có thể ước tính được thời gian sử dụng, lưu trữ và thời điểm nói chuẩn quốc tế (khi cần thiết) để phân phối tới các phòng thí nghiệm hợp lý góp phần chủ động trong công tác kiểm định vắc xin. Xuất phát từ thực tế trên, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu: Đánh giá sự ổn định công hiệu của vắc xin mẫu chuẩn quốc gia bạch hầu lần thứ nhất, mã số MCQG.BH.01 thông qua đánh giá xu hướng ổn định chỉ số Slope của loạt MCQG.BH.01.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu.

Đối tượng nghiên cứu: Vắc xin mẫu chuẩn quốc gia bạch hầu lần thứ nhất, mã số MCQG.BH.01, bảo quản ở -70°C .

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm nghiên cứu: Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 01 năm 2021 đến tháng 12 năm 2023.

2.3. Vật liệu nghiên cứu

Chỉ số slope của vắc xin mẫu chuẩn quốc gia bạch hầu lần thứ nhất, mã số MCQG.BH.01 khi thực hiện kiểm định các loạt vắc xin có chứa thành phần bạch hầu từ tháng 01 năm 2021 đến tháng 12 năm 2023.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp nghiên cứu: nghiên cứu hồi cứu.

Thiết kế nghiên cứu: Thu thập số liệu (chỉ số slope của MCQG.BH.01) khi kiểm tra công hiệu các loạt vắc xin chứa thành phần bạch hầu bằng phương pháp chuẩn độ hiệu giá kháng thể Kháng bạch hầu trên tế bào Vero thực hiện tại NICVB năm 2021, 2022 và 2023. Sử dụng đồ thị Shewhart để phân tích, đánh giá mẫu chuẩn.

Cách chọn mẫu: Tất cả chỉ số slope của MCQG.BH.01 khi thực hiện kiểm định các loạt vắc xin có chứa thành phần bạch hầu từ tháng 01 năm 2021 đến tháng 12 năm 2023.

Phương pháp thu thập số liệu: Dữ liệu được thu thập từ các lần kiểm định của các lô vắc xin độc lập chứa thành phần bạch hầu từ năm 2021 đến năm 2023.

Phương pháp xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2023 tính giá trị trung bình (GM: Geomean), độ lệch chuẩn (SD - standard deviation) của ED₅₀ MCQG.BH.01.

Cách tiến hành: Xác định giá trị trung bình, độ lệch chuẩn. Từ đó thiết lập các giới hạn cảnh báo (GM - 2SD, GM + 2SD) và

giới hạn hành động (GM - 3SD, GM + 3SD), khoảng GM \pm 1SD.

Vẽ đồ thị Shewhart.

Tìm các dấu hiệu sau [6,7]:

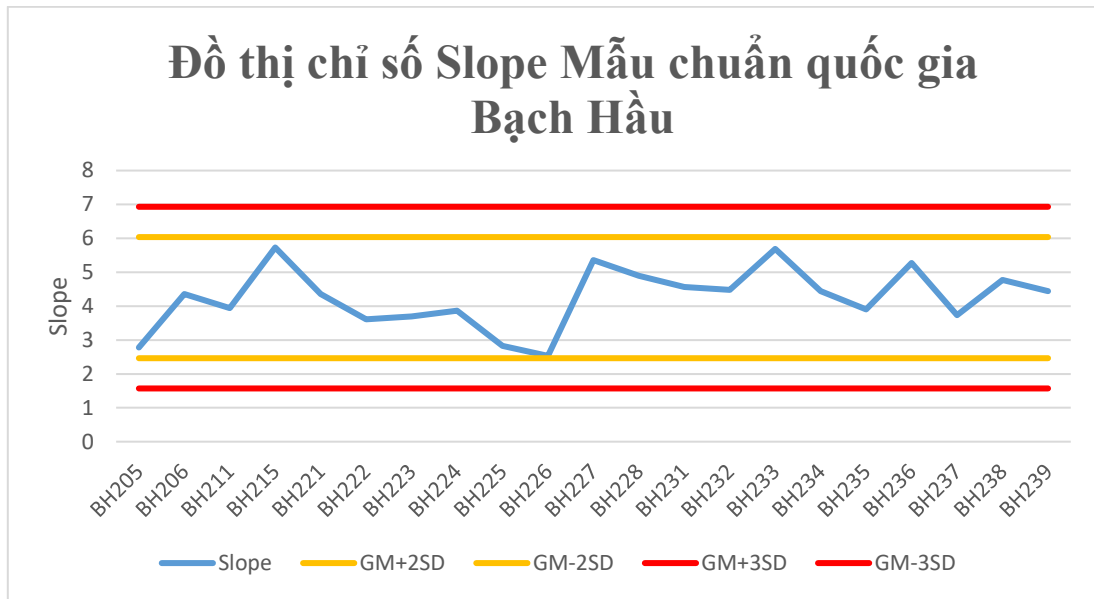
- 1 điểm nằm ngoài khoảng GM \pm 3SD;
- 2 điểm liên tiếp nằm trong vùng cảnh báo;
- 4 điểm liên tiếp nằm ngoài khoảng GM \pm 1SD;

- 6 điểm tăng hoặc giảm liên tục;
- 8 điểm liên tục nằm ở một phía của đường trung bình;
- 14 điểm liên tục dao động lên xuống;
- 15 điểm liên tục nằm trong giới hạn 1SD.

3. Kết quả

Bảng 1. Kết quả hồi cứu chỉ số slope của mẫu chuẩn quốc gia vắc xin bạch hầu lần thứ nhất, mã số MCQG.BH.01 được kiểm định tại NICVB (từ năm 2021)

STT	Mã	Slope	GM	GM + SD	GM - SD	GM + 2SD	GM - 2SD	GM + 3SD	GM - 3SD	SD
1	BH205	2.782	4.251	5.144	3.357	6.038	2.464	9.931	1.570	0.893
2	BH206	4.360								
3	BH211	3.944								
4	BH215	5.730								
5	BH221	4.360								
6	BH222	3.612								
7	BH223	3.695								
8	BH224	3.861								
9	BH225	2.823								
10	BH226	2.532								
11	BH227	5.356								
12	BH228	4.899								
13	BH231	4.567								
14	BH232	4.484								
15	BH233	5.688								
16	BH234	4.443								
17	BH235	3.903								
18	BH236	5.273								
19	BH237	3.737								
20	BH238	4.775								
21	BH239	4.443								



Hình 2. Đồ thị chỉ số slope của mẫu chuẩn quốc gia vắc xin bạch hầu MCQG.BH.01

Có 21 số liệu slope thu được từ thử nghiệm công hiệu vắc xin chứa thành phần bạch hầu, từ năm 2021 đến năm 2023. Trong đó: $GM = 4,251$; $SD = 0,893$; Giới hạn cảnh báo ($GM \pm 2SD$) tương ứng là $4,251 \pm 1,786$; giới hạn hành động ($GM \pm$

$3SD$) tương ứng là $4,251 \pm 2,679$.

Toàn bộ kết quả thu được đều nằm trong khoảng ($GM \pm 2SD$), không có kết quả nào nằm trong vùng cảnh báo cũng như vùng hành động.

Bảng 3. Độ ổn định chỉ số Slope của MCQG.BH.01 theo tiêu chí của WHO [6,7]

Tiêu chí đánh giá chỉ số Slope		Đạt	Không đạt
Tiêu chí cơ bản	Không có điểm nào nằm ngoài khoảng $GM \pm 3SD$	X	
	Không có 2 điểm liên tiếp nằm trong vùng cảnh báo ($GM-3SD$, $GM-2SD$) hoặc ($GM+2SD$, $GM+3SD$)	X	
Tiêu chí ổn định cao	Không có 4 điểm liên tiếp nằm ngoài khoảng $GM \pm 1SD$	X	
	Không có 6 điểm tăng hoặc giảm liên tiếp	X	
	Không có 8 điểm liên tục nằm ở một phía của đường trung bình	X	
	Không có 14 điểm liên tục dao động lên xuống	X	
	Không có 15 điểm liên tục nằm trong giới hạn 1SD.	X	

Đối chiếu kết quả thu được của chỉ số Slope với tất cả các tiêu chí cơ bản và tiêu chí ổn định cao cho thấy bộ số liệu thu được ổn định, không vi phạm bất kỳ tiêu chí nào trong các tiêu chí nêu trên. Toàn bộ kết quả đều và đều nằm trong khoảng $GM \pm 2SD$.

4. Bàn luận

Khi sử dụng đồ thị Shewhart để phân tích các giá trị của chỉ số Slope thì WHO khuyến cáo nên đánh giá độ ổn định của một bộ dữ liệu dựa vào các khoảng $GM \pm 3SD$, $GM \pm 2SD$ như sau:

Nếu chỉ số nằm ngoài khoảng $GM \pm 3SD$ thì được gọi là vùng hành động [6,7]. Nếu có một chỉ số (tương ứng với kết quả số liệu Slope khi kiểm định một loạt mẫu chuẩn) nằm ngoài vùng này thì cần phải kiểm tra xem xét lại tất cả các yếu tố liên quan đến chất lượng mẫu chuẩn, quá trình bảo quản, nhiệt độ bảo quản, vận chuyển; các điều kiện thực hiện thử nghiệm xác định công hiệu thành phần bạch hầu như: động vật thí nghiệm, tế bào vero, vật tư hóa chất, độ pha loãng mẫu, tay nghề nhân viên... Để tìm ra nguyên nhân và có các biện pháp giúp phòng ngừa và khắc phục.

Nếu giá trị nằm trong khoảng $GM-3SD$, $GM-2SD$ hoặc $GM+2SD$, $GM+3SD$ thì đây được gọi là vùng cảnh báo[6,7]. Kết quả khi nằm trong khoảng này cũng cần có các biện pháp để có thể phòng ngừa, điều chỉnh trước khi thực hiện các lần thử nghiệm tiếp theo. Ngoài các khoảng trên, giá trị Slope còn được đánh giá có tính ổn định cao khi không có xuất hiện các dấu hiệu như sau [6,7]:

- + 1 điểm giá trị nằm ngoài khoảng $GM \pm 3SD$;
- + 2 điểm giá trị liên tiếp nằm trong vùng cảnh báo;
- + 4 điểm giá trị liên tiếp nằm ngoài khoảng $GM \pm 1SD$;
- + 6 điểm giá trị tăng liên tục hoặc giảm liên tục;
- + 8 điểm giá trị liên tục nằm ở một phía của đường trung bình;
- + 14 điểm giá trị liên tục dao động lên xuống;
- + 15 điểm giá trị liên tục nằm trong giới hạn $1SD$.

Các dữ liệu về chỉ số slope của loạt mẫu chuẩn MCQG.BH.01 thực hiện tại NICVB để đánh giá được hồi cứu dữ liệu để phân tích. Qua phân tích cho thấy tất cả các

kết quả gồm 21 kết quả thu được đều nằm trong khoảng ($GM \pm 2SD$), không có kết quả nào nằm trong vùng cảnh báo cũng như vùng hành động. Tất cả giá trị của chỉ số Slope đều đạt các tiêu chí cơ bản và tiêu chí ổn định cao cho thấy bộ số liệu thu được ổn định, không vi phạm bất kỳ tiêu chí nào.

Qua các phân tích số liệu chỉ số Slope nếu trên ta có thể thấy tính ổn định về chất lượng của loạt vắc xin mẫu chuẩn quốc gia bạch hầu MCQG.BH.01 sau khi thiết lập để đưa vào sử dụng trong thử nghiệm công hiệu các vắc xin chứa thành phần bạch hầu. Kết quả phân tích từ năm 2021 đến năm 2023 sử dụng cho thấy chất lượng công hiệu loạt mẫu chuẩn vẫn ổn định trong điều kiện bảo quản -70 °C.

Thử nghiệm công hiệu là thử nghiệm quan trọng nhất để đánh giá chất lượng vắc xin mẫu chuẩn. Giá trị công hiệu của MCQG.BH.01 đã được ấn định 513 IU/ống dạng đông khô và được bảo quản ở nhiệt độ tối ưu -70 °C (kết quả thu được khi thiết lập mẫu chuẩn quốc gia bạch hầu lần thứ nhất). Chính vì thế việc thực hiện đánh giá loạt mẫu chuẩn MCQG.BH.01 được thực hiện thông qua phân tích giá trị của chỉ số slope cho thấy đến thời điểm hiện tại giá trị công hiệu của MCQG.BH.01 vẫn là 513 IU/ống.

Nhóm nghiên cứu sẽ tiếp tục theo dõi, phân tích các kết quả thu được trong các lần làm thử nghiệm ở các năm kế tiếp để đánh giá chất lượng và tính ổn định của vắc xin mẫu chuẩn MCQG.BH.01 nhằm đảm bảo kết quả kiểm định chất lượng dùng cho thử nghiệm công hiệu vắc xin chứa thành phần bạch hầu trước khi xuất xưởng lô.

5. Kết luận

Từ năm 2021 đến 2023 có 21 loạt vắc xin kiểm định tại NICVB. sử dụng vắc xin

mẫu chuẩn quốc gia bạch hầu đủ điều kiện để tiến hành theo dõi và đánh giá tính ổn định thông qua chỉ số Slope trên đồ thị Shewhart. Kết quả các giá trị của chỉ số Slope đều nằm trong khoảng $GM \pm 2SD$. Do đó, vắc xin mẫu chuẩn quốc gia bạch hầu lần thứ nhất, mã số MCQG.BH.01 đảm bảo tính ổn định và chất lượng theo tiêu chuẩn của WHO để sử dụng trong các thử nghiệm kiểm định vắc xin tại NICVB và các nhà sản xuất.

Tài liệu tham khảo

[1] World Health Organization (2009), The Immunological Basis for Immunization Series, 2, pp. 1-11.

[2] World Health Organization, Diphtheria reported cases. Available from: https://apps.who.int/immunization_monitoring/globalsummary/timeseries/tsincidence/diphtheria.html. Received on 25 June 2021

[3] World Health Organization (1997), Manual of laboratory methods for testing of vaccines used in the WHO Expanded Programme on Immunization, Geneva.

[4] Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (2021), Báo cáo kết quả khoa học và công nghệ: “Nghiên cứu sản xuất 11 vắc xin mẫu chuẩn quốc gia dùng cho kiểm định vắc xin thuộc Chương trình sản phẩm quốc gia vắc xin phòng bệnh cho người”, Mã số SPQG.05a.07.

[5] WHO (2009), The Immunological Basis for Immunization Series: Module 2: Diphtheria. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/who-immunological-basis-for-immunization-series-module-2-diphtheria>, Received on 22 June 2021.

[6] World Health Organization (2013), Guidelines for independent lot release of vaccines by regulatory authorities, WHO Technical Report Series No. 978.

[7] World Health Organization (2014), Trend analysis, Training course on lot release of vaccine, WHO, Hanoi.