

# OPTIMAL PROCEDURE POTENCY TEST OF IMOJEV VACCINE FOLLOWING CHANGES IN CELL STAINING AND FIXATION REAGENTS

Nguyen Viet Anh<sup>1\*</sup>, Do Thi Hong Anh<sup>1</sup>, Nguyen Thi Vinh Ha<sup>2</sup>, Nguyen Thi Ha<sup>1</sup>, Tran Thi  
Phuong<sup>1</sup>, Nguyen Thi Ly<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Institute for Control of Vaccines and Biologicals

<sup>2</sup>Phenikaa University

Received 02 June 2025

Accepted 26 June 2025

**Abstract:** Imojev is a vaccine for Japanese encephalitis virus prevention and is quality controlled at National Institute for Control of Vaccines and Biologicals (NICVB) before distribution. At NICVB, the research team modified cell staining and fixation solutions to reduce testing time, save expenses, and to minimize exposure to harmful chemicals for performed staff, while still ensuring the accuracy and reliability of test results. The potency procedure for the Japanese encephalitis vaccine Imojev after modifying cell staining and fixation reagents, was partially validated based on indicators such as accuracy and precision. The results of accuracy showed that the average potency value of reference standard was 4,76 log PFU/dose, with a t-value of 1,22, which is less than the critical t-value from Student's distribution at the confidence level  $P = 95\%$ . The potency values of vaccine for repeatability and intermediate precision indicators were respectively 4,82 and 4,72 log PFU/dose, within the acceptable specification by manufacturer (4,0-5,8 log PFU/ dose). Therefore, the procedure of Imojev vaccine potency after modifying cell staining and fixation chemicals, meets the established criteria and can be replaced for the previous routine testing method.

**Keywords:** Potency, IMOJEV vaccine, PFU method, cell staining and fixation.

---

\* Corresponding author:

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

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i5.213>

# TỐI ƯU HOÁ QUY TRÌNH THỬ NGHIỆM CÔNG HIỆU VẮC XIN IMOJEV KHI THAY ĐỔI HÓA CHẤT NHUỘM VÀ CỐ ĐỊNH TẾ BÀO

Nguyễn Việt Anh<sup>1\*</sup>, Đỗ Thị Hồng Ánh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Vinh Hà<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Hà<sup>1</sup>, Trần Thị  
Phương<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Lý<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế

<sup>2</sup>Trường Đại học Phenikaa

Nhận ngày 02 tháng 06 năm 2025

Chấp nhận đăng ngày 26 tháng 06 năm 2025

**Tóm tắt:** Imojev là vắc xin phòng viêm não Nhật Bản được kiểm định tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB) trước khi lưu hành. Tại NICVB, nhóm nghiên cứu đã thay đổi dung dịch nhuộm và cố định tế bào nhằm mục đích giảm thời gian thử nghiệm, tiết kiệm chi phí, giảm thời gian phơi nhiễm với các hóa chất có hại cho sức khỏe các cán bộ thực hiện, kết quả thử nghiệm được đảm bảo và tin cậy. Quy trình công hiệu vắc xin Imojev sau khi thay đổi hóa chất nhuộm và cố định tế bào được thẩm định một phần qua các tiêu chí độ đúng và độ chính xác. Kết quả tiêu chí độ đúng cho thấy giá trị công hiệu trung bình của mẫu chuẩn là 4,76 log PFU/liều với giá trị  $t = 1,22$ , nhỏ hơn  $t_{\alpha}$  trong bảng phân phối Student tại  $P = 95\%$ , giá trị công hiệu trung bình của vắc xin trong tiêu chí độ lặp lại và độ chính xác trung gian lần lượt là 4,82 và 4,72 log PFU/liều nằm trong khoảng tiêu chuẩn cho phép của nhà sản xuất (4,0-5,8 log PFU/liều). Vì vậy, quy trình công hiệu vắc xin Imojev sau khi thay đổi hóa chất nhuộm và cố định tế bào đạt yêu cầu ở các tiêu chí đề ra và có thể ứng dụng thay thế trong thử nghiệm thường quy cũ.

**Từ khóa:** Công hiệu, vắc xin IMOJEV, phương pháp PFU, nhuộm và cố định tế bào.

**1. Đặt vấn đề:** Viêm não Nhật Bản là một trong những bệnh truyền nhiễm ảnh hưởng đến hệ thống thần kinh do vi rút gây ra, xuất hiện ở hầu hết các nước Châu Á và Tây Thái Bình Dương, trong đó có Việt Nam, những nơi có khí hậu nhiệt đới ẩm, thuận lợi cho sự phát triển của muỗi, đặc biệt là muỗi *Culex tritaeniorhynchus*, véc tơ chính truyền vi rút viêm não Nhật Bản [1,2]. Hiện nay vẫn chưa có thuốc đặc trị cho bệnh viêm não Nhật Bản, vì vậy, việc tiêm phòng là một cách phòng bệnh chủ động và hiệu quả nhất. Theo thống kê cho thấy, khi đưa các vắc xin viêm não Nhật Bản vào chương trình tiêm chủng mở rộng hay tiêm dịch vụ, tỉ lệ mắc bệnh giảm rõ rệt xuống còn khoảng 0,16-0,56/100.000 dân trong giai đoạn 2014-2023 [2]. Hầu hết các ca ghi nhận

ở các tỉnh miền núi phía Tây Bắc, chiếm khoảng 42,0%. Trong các trường hợp mắc bệnh viêm não Nhật Bản, tỉ lệ mắc bệnh của trẻ em từ 15 tuổi trở xuống chiếm đến 88,4%, vì vậy, các biện pháp phòng chống dịch giám sát, tiêm chủng và cả giáo dục truyền thông cần được đẩy mạnh và thực hiện thường xuyên [2].

Hiện nay, có 3 loại vắc xin viêm não Nhật Bản đang được lưu hành tại Việt Nam, bao gồm vắc xin Jevax (Vabiotech, Việt Nam), Jeev (BE, Ấn Độ) và Imojev (Global Biotech Products Co. Ltd, Thái Lan). Khác với hai vắc xin viêm não Nhật Bản bất hoạt Jevax và Jeev, Imojev là vắc xin sống, giảm độc lực thế hệ mới khi ứng dụng công nghệ tái tổ hợp để thay thế hai đoạn gen tiền màng (pre-Membrane- prM) và vỏ (Envelope- E) của vi rút gây bệnh sốt vàng chủng 17D-204 bằng hai đoạn gen tương ứng của vi rút viêm não Nhật Bản chủng SA14-14-2 [3-6]. Vì vậy, thay vì phải tiêm chuột tạo miễn dịch như các vắc xin bất hoạt, vắc xin Imojev được pha loãng ra nồng độ thích hợp rồi gây nhiễm trực tiếp trên tế bào thường trực Vero, cố định và nhuộm rồi đọc kết quả số đám hoại tử (plaque) bằng mắt thường [7].

Quy trình thử nghiệm Imojev bằng phương pháp tạo đám hoại tử (Plaque Forming Unit-PFU) đã được khoa Kiểm định vắc xin Vi rút thẩm định năm 2021 và ứng dụng vào thử nghiệm thường quy [8]. Trong thời gian thực hiện, nhóm nghiên cứu đã thử nghiệm, cải tiến và tối ưu hóa quy trình sao cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm cũng như phù hợp với trang thiết bị, hóa chất, vật tư và con người. Formaldehyde là một hợp chất hóa học dùng để cố định tế bào và mô nhằm mục đích bảo tồn cấu trúc của tế bào và giữ nguyên hình dạng, cấu trúc nội bào còn crystal violet là thuốc nhuộm phổ biến có màu tím được dùng trong sinh học tế bào và vi sinh vật vì khả năng bám màu tốt. Tuy nhiên, cả hai hóa chất này đều là hóa chất độc hại, có thể gây ung thư hay kích ứng da khi tiếp xúc với cơ thể. Từ đó, thay vì thực hiện bước cố định và nhuộm tế bào riêng rẽ và ủ trong thời gian dài như quy trình chuẩn của nhà sản xuất, nhóm nghiên cứu đã sử dụng dung dịch nhuộm crystal violet có chứa formaldehyde để nhuộm và cố định tế bào trong 15 phút ở nhiệt độ phòng. Để thay thế bước nhuộm và cố định tế bào, đề tài “Tối ưu hoá quy trình công hiệu vắc xin Imojev khi thay đổi hóa chất nhuộm và cố định tế bào” được thực hiện để đảm bảo kết quả thử nghiệm không có sai khác mang ý nghĩa thống kê với quy trình được sử dụng trước đó.

## **2. Phương pháp nghiên cứu**

## **2.1. Đối tượng nghiên cứu**

Quy trình thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản khi thay đổi hóa chất cố định và nhuộm tế bào được thực hiện trên mẫu chuẩn JE Chemeric live (Global Biotech Products Co. Ltd, Thái Lan) và vắc xin Imojev (Global Biotech Products Co. Ltd, Thái Lan).

## **2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu**

- Thời gian: Từ tháng 01/2024 đến tháng 07/2024

- 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

## **2.3. Vật liệu, hóa chất**

- Hóa chất, môi trường: Crystal violet (Merck), Ethanol 90° (Việt Nam), Fetal Bovine Serum (Gibco), Formaldehyde solution 37% (Merck), L-Glutamine (Gibco), Methylcellulose (Sigma), MEM autoclavable (Gibco), MEM 2% FBS (NICVB), MEM 10% FBS (NICVB), PBS (NICVB), Pen-strep (Gibco), Sodium Bicarbonate 7,5% (Gibco), Sodium chloride (Merck), Trypsin EDTA 0,25% (Gibco).

- Vật liệu: Tế bào Vero mọc kín một lớp trên phiến 6 giếng

- Trang thiết bị, vật tư tiêu hao: Bể ổn nhiệt (Shellab), chai thủy tinh (Schott Duran), đầu côn (Eppendorf), kính hiển vi phản pha (Olympus), tủ an toàn sinh học (Nuair), máy lắc (IKA), tủ ấm CO<sub>2</sub> (Sanyo), tủ ấm 20°C (Sanyo), pipet đơn kênh (Eppendorf), phiến 6 giếng nuôi tế bào (Corning),...

## **2.4. Phương pháp nghiên cứu**

Phương pháp mô tả thực nghiệm trong phòng thí nghiệm. Thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản được thực hiện theo phương pháp tạo đám hoại tử (PFU).

*a. Tóm tắt quy trình thử nghiệm công hiệu [7]:*

Hoàn nguyên mẫu chuẩn và mẫu thử với nước hồi chính rồi pha loãng với MEM 2% FBS ra các độ pha  $1/10^1$ ,  $1/10^2$ ,  $1/(3 \times 10^2)$ ,  $1/(9 \times 10^2)$ ,  $1/(27 \times 10^2)$ ,  $1/(81 \times 10^2)$ . Tế bào Vero được nuôi

cây trên các phiến 6 giếng được gây nhiễm với 300 $\mu$ l vắc xin mẫu thử ở nồng độ 1/(3x10<sup>2</sup>) đến 1/(81x10<sup>2</sup>) và mẫu chuẩn từ nồng độ 1/10<sup>2</sup> đến 1/(27x10<sup>2</sup>), mỗi nồng độ 3 giếng rồi lặp lại trên 3 phiến. 300 $\mu$ l MEM 2% FBS được nhỏ vào 2 giếng làm giếng chứng âm. Các phiến sau khi gây nhiễm được ủ ở 36 $\pm$ 1°C, 5% CO<sub>2</sub> trong 90 phút trước khi phủ 3ml môi trường MEM 1% Methyl cellulose. Sau 5 ngày ủ ở 36 $\pm$ 1°C, 5% CO<sub>2</sub>, tế bào thay vì được cố định bằng 3ml Formaldehyde 37% ở nhiệt độ phòng trong 50 phút rồi nhuộm bằng 1ml crystal violet trong 15 phút trước khi được rửa lại dưới vòi nước như quy trình của nhà sản xuất, các phiến tế bào sẽ được cố định và nhuộm cùng lúc bằng dung dịch crystal violet có chứa formaldehyde theo công thức đang sử dụng tại NICVB ở nhiệt độ phòng trong 15 phút rồi được rửa sạch dưới vòi nước và để khô trước khi đọc kết quả. Công thức pha bao gồm 5g crystal violet, 95ml ethanol, 25ml formaldehyde 37% và 375 ml sodium chloride 0,85% [9]. Thử nghiệm có giá trị khi không có dấu hiệu tế bào bị nhiễm khuẩn hay nấm mốc, số đám hoại tử (plaque) của các giếng nằm trong khoảng 10-100, không có plaque trong các giếng chứng âm và hệ số biến thiên CV  $\leq$  40%. Tiêu chuẩn thử nghiệm dựa theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất với giá trị công hiệu vắc xin mẫu chuẩn nằm trong khoảng 4,25 - 5,09 log PFU/ 0,5ml và giá trị công hiệu vắc xin mẫu thử nằm trong khoảng 4,0 - 5,8 log PFU/liều. Công thức tính công hiệu vắc xin Imojev bằng phương pháp PFU:

$$\text{Công hiệu mẫu thử} = \frac{(\text{Số plaque trung bình} \times \text{Độ pha loãng})}{\text{Thể tích mẫu gây nhiễm}}$$

*b. Tiêu chí độ đúng của quy trình thẩm định [7, 10]*

Độ đúng là sự gần trùng hợp các kết quả thu được so với giá trị thực khi đo lường hoặc phân tích. Thực hiện thử nghiệm trên mẫu chuẩn sáu lần vào sáu ngày khác nhau và bởi cùng một nhóm thực hiện trong cùng điều kiện trang thiết bị và hóa chất. Độ đúng của quy trình đạt yêu cầu khi giá trị công hiệu của mẫu chuẩn nằm trong khoảng giới hạn cho phép của nhà sản xuất được ghi trên nhãn (4,25 - 5,09 log PFU/0,5ml) và giá trị  $t < t_{\alpha}$  của bảng phân bố student tại P = 95%.

*c. Tiêu chí độ lặp lại của quy trình thẩm định [10]*

Độ lặp lại là một trong những tiêu chí để đánh giá độ chính xác của quy trình hay mức độ thống nhất giữa các kết quả thử nghiệm riêng rẽ. Độ lặp lại được thực hiện trong bởi cùng một nhóm trên cùng một lô vắc xin, lặp lại sáu lần vào cùng một ngày. Độ lặp lại của quy trình đạt

yêu cầu khi giá trị công hiệu của mẫu thử nằm trong khoảng giới hạn cho phép của nhà sản xuất và hệ số biến thiên  $CV \leq 30\%$ .

#### d. Tiêu chí độ chính xác trung gian của quy trình thẩm định [10]

Độ chính xác trung gian là một trong ba tiêu chí đánh giá độ chính xác của quy trình hay mức độ thống nhất giữa các kết quả thử nghiệm riêng rẽ. Độ chính xác trung gian được thực hiện trong cùng một phòng xét nghiệm bởi cùng một nhóm thực hiện trên cùng một lô vắc xin, thực hiện năm lần vào năm ngày khác nhau. Độ chính xác trung gian của quy trình đạt yêu cầu khi giá trị công hiệu của mẫu chuẩn và mẫu thử nằm trong khoảng giới hạn cho phép của nhà sản xuất và hệ số biến thiên  $CV \leq 30\%$ .

### 3. Kết quả

Sau khi hoàn nguyên, pha loãng mẫu chuẩn và mẫu thử với nước hồi chính kèm theo, gây nhiễm trên tế bào Vero, phủ thạch, nuôi cấy ở  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , cố định và nhuộm rửa tế bào với dung dịch crystal violet được pha theo công thức được sử dụng tại NICVB [9], chúng tôi thu được plaque trên các giếng tế bào được gây nhiễm với vắc xin và mẫu chuẩn, phiên tế bào chứng âm không có plaque xuất hiện, các giếng đều không có sự xuất hiện của nấm hoặc khuẩn lạc. Đọc kết quả bằng cách đếm số plaque dưới đèn đọc rồi áp dụng công thức tính công hiệu vắc xin Imojev. Từ đó, sử dụng phần mềm excel để tính các thông số như trung bình nhân (GM), độ lệch chuẩn (SD), hệ số biến thiên (CV) để đánh giá các tiêu chí thẩm định quy trình thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Imojev bằng phương pháp tạo đám hoại tử Plaque Forming Unit (PFU) [7].

#### 3.1. Độ đúng

Tiêu chí độ đúng được thực hiện từ 01/03/2024 đến 16/04/2024 đối với mẫu chuẩn JE live (Thái Lan) qua sáu lần thực hiện có kết quả như sau:

**Bảng 1. Kết quả đánh giá tiêu chí độ đúng**

Lần thực hiện	Hiệu giá mẫu chuẩn (PFU/0,5 ml) thẩm định 2021	Hiệu giá mẫu chuẩn (PFU/0,5 ml) khi thay đổi hoá chất
1	4,73	4,68
2	4,72	4,74

3	4,72	4,73
4	4,75	4,84
5	4,74	4,81
6	4,75	4,76
<b>GM</b>	<b>4,73</b>	<b>4,76</b>
<b>SD</b>	<b>0,01</b>	<b>0,06</b>
<b>CV</b>	<b>0,29</b>	<b>1,21</b>

Trong đó: GM (Geomean): Trung bình nhân.

SD (Standard Deviation): Độ lệch chuẩn.

CV (Coefficient of Variation): Hệ số biến thiên

Giá trị công hiệu của mẫu chuẩn đều đạt yêu cầu với giá trị cao nhất là 4,84 log PFU/liều và thấp nhất là 4,68 log PFU/liều, các giá trị công hiệu của mẫu chuẩn đều nằm trong khoảng cho phép của nhà sản xuất (4,25 - 5,09 log PFU/liều). So sánh kết quả trung bình sáu lần thực hiện khi thay đổi chất nhuộm và cố định tế bào (xtb= 4,76) với kết quả trung bình đã thẩm định trước đó (x=4,73) [8] vào công thức:

$$t = \frac{|xtb-x|}{s/\sqrt{n}} = \frac{|4,76-4,73|}{0,06/\sqrt{6}} = 1,22. \text{ Đối chiếu trong bảng phân phối Student tại mức ý nghĩa } \alpha = 0,05$$

hay độ tin cậy 95%,  $t_{\alpha} = 2,45$ . Vậy  $t < t_{\alpha}$ .

### 3.2. Độ lặp lại

Tiêu chí độ lặp lại được thực hiện trên mẫu vắc xin Imojev sáu lần trong cùng một thời điểm có kết quả như sau:

**Bảng 2. Kết quả đánh giá tiêu chí độ lặp lại**

Lần thực hiện	Hiệu giá vắc xin (PFU/liều) thẩm định 2021	Hiệu giá vắc xin (PFU/liều) khi thay đổi hoá chất
1	4,63	4,83
2	4,75	4,78
3	4,75	4,62
4	4,73	4,88
5	4,79	4,91
6	4,75	4,93
<b>GM</b>	<b>4,73</b>	<b>4,82</b>

<b>SD</b>	<b>0,05</b>	<b>0,11</b>
<b>CV</b>	<b>1,15</b>	<b>2,37</b>

Trong đó: GM (Geomean): Trung bình nhân.

SD (Standard Deviration): Độ lệch chuẩn.

CV (Coefficient of Variation): Hệ số biến thiên

Giá trị công hiệu của vắc xin Imojev đều đạt yêu cầu và nằm trong khoảng cho phép của nhà sản xuất là 4,0 - 5,8 log PFU/liều với các giá trị đạt được từ 4,62 log PFU/liều đến 4,91 log PFU/liều. Giá trị công hiệu trung bình trong sáu lần thực hiện GM = 4,82 log PFU/liều và hệ số biến thiên CV giữa các lần = 2,37%.

### 3.3. Độ chính xác trung gian

Tiêu chí độ chính xác trung gian được thực hiện trên cùng một lô vắc xin viêm não Nhật bản Imojev năm lần vào năm ngày khác nhau từ 01/03/2024 đến 09/04/2024 có kết quả như sau:

**Bảng 3. Kết quả đánh giá tiêu chí độ chính xác trung gian**

<b>Lần thực hiện</b>	<b>Hiệu giá vắc xin (PFU/liều) thẩm định 2021</b>	<b>Hiệu giá vắc xin (PFU/liều) khi thay đổi hoá chất</b>
1	4,63	4,70
2	4,99	4,67
3	4,61	4,74
4	4,76	4,81
5	4,66	4,67
<b>GM</b>	<b>4,77</b>	<b>4,72</b>
<b>SD</b>	<b>0,17</b>	<b>0,06</b>
<b>CV</b>	<b>3,53</b>	<b>2,50</b>

Trong đó: GM (Geomean): Trung bình nhân.

SD (Standard Deviration): Độ lệch chuẩn.

CV (Coefficient of Variation): Hệ số biến thiên

Giá trị công hiệu của vắc xin Imojev trong năm lần thực hiện vào năm ngày khác nhau đều đạt yêu cầu và nằm trong khoảng cho phép của nhà sản xuất (4,0 - 5,8 log PFU/ liều) với giá trị trung bình GM = 4,72 log PFU/liều và hệ số biến thiên % CV = 2,50%.

## 4. Bàn luận

Vắc xin phòng chống viêm não Nhật Bản Imojev là một vắc xin tái tổ hợp thế hệ mới, sử dụng vi rút sốt vàng chủng 17D sống, giảm độc lực làm khung di truyền (vector), sau đó thay thế hai đoạn gen tiền màng (Pre membrane- prM) và vỏ (Envelop- E) bằng hai đoạn gen tương ứng của vi rút viêm não Nhật Bản sống, giảm độc lực chủng SA14-14-2 [3-6]. Công hiệu Imojev là một trong những thử nghiệm quan trọng để cơ quan quản lý kiểm soát chất lượng đánh giá sản phẩm trước và sau khi cấp số lưu hành sản phẩm. Thẩm định quy trình công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Imojev cho thấy sự ổn định về mặt chất lượng của cả mẫu chuẩn và mẫu thử đã được thực hiện từ năm 2021 [8]. Sau khi quy trình thử nghiệm công hiệu Imojev được đưa vào thường quy, nhóm nghiên cứu đã tiếp tục nghiên cứu, tối ưu các phương pháp, bước làm của thử nghiệm này, trong đó có việc thay đổi môi trường cố định và nhuộm tế bào.

Theo quy trình chuẩn của nhà sản xuất, sau khi ủ các phiến ở  $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  trong 5 ngày, loại bỏ môi trường methylcellulose rồi thêm 3ml formaldehyde vào các phiến ủ ở nhiệt độ phòng trong 50 phút để cố định tế bào. Sau đó, rửa các phiến 2 lần với nước sạch rồi thêm 1 ml crystal violet, ủ trong 15 phút để nhuộm tế bào. Các phiến được rửa sạch dưới vòi nước, thấm khô rồi đọc kết quả dưới đèn đọc [7]. Thay vì thực hiện hai bước cố định và nhuộm tế bào riêng rẽ, nhóm nghiên cứu đã sử dụng dung dịch nhuộm và cố định tế bào crystal violet có thành phần gồm crystal violet, ethanol, formaldehyde 37% và sodium chloride 0,85% [9]. Các phiến tế bào được ủ ở nhiệt độ phòng trong 15 phút trước khi được rửa dưới vòi nước sạch, để khô và đọc kết quả.

Kết quả cho thấy khi thay đổi hóa chất nhuộm và cố định tế bào, các tiêu chí độ đúng, độ lặp lại và độ chính xác trung gian đều đạt yêu cầu với giá trị trung bình của mẫu chuẩn và mẫu thử lần lượt là 4,76 log PFU/0,5ml; 4,82 log PFU/liều và 4,72 log PFU/ liều. Đối với tiêu chí độ đúng, giá trị  $t = 1,22$ , nhỏ hơn giá trị  $t_{\alpha}$  của bảng phân phối student tại  $P = 95\%$ . Đối với tiêu chí độ lặp lại, hệ số biến thiên  $CV = 2,37\%$ , nhỏ hơn tiêu chuẩn thẩm định ( $CV \leq 30\%$ ) và đối với tiêu chí độ chính xác trung gian, hệ số biến thiên  $CV = 2,50$ , đạt yêu cầu  $CV \leq 30\%$  như tiêu chuẩn thẩm định đề ra. Vì vậy, khi thay đổi hóa chất nhuộm và cố định tế bào, thử nghiệm công hiệu vắc xin Imojev vẫn đạt yêu cầu của thử nghiệm và các tiêu chí thẩm định. Ngoài ra, giá trị công hiệu của mẫu chuẩn và mẫu thử không có sự sai khác mang ý nghĩa thống kê với kết quả thẩm định quy trình công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Imojev trước đó (giá trị công hiệu trung bình vắc xin Imojev đối với tiêu chí độ lặp lại là 4,73 log PFU/ liều với  $CV = 1,06\%$  và đối

với độ chính xác trung gian là 4,77 log PFU/ liều với CV= 3,56%) [8] chứng tỏ việc thay đổi hóa chất nhuộm và cố định tế bào không làm ảnh hưởng đến kết quả của thử nghiệm mà còn giúp giảm thời gian thực hiện thử nghiệm, tiết kiệm chi phí, và giảm thời gian phơi nhiễm với các hóa chất độc hại đối với nhân viên.

## **5. Kết luận**

Tiêu chí độ đúng, độ lặp lại và độ chính xác trung gian đều đạt yêu cầu với hệ số biến thiên  $CV \leq 30\%$ , công hiệu của vắc xin viêm não Nhật Bản Imojev từng lần thực hiện nằm trong khoảng cho phép 4,0- 5,8 log PFU/liều theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất. Quy trình thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Imojev sau khi thay đổi hóa chất nhuộm và cố định tế bào phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm tại viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế.

## **Tài liệu tham khảo**

[1] Yun SI, Lee YM. Japanese encephalitis: The virus and vaccines. *Hum Vaccin Immunother* 2013; 10: 1-17.

[2] Lê Hải Đăng và cộng sự. Đặc điểm dịch tễ học bệnh viêm não Nhật Bản tại khu vực miền Bắc Việt Nam, giai đoạn 2014-2023, *Tạp chí Y học dự phòng*, số 5(34) 2024. Truy cập tại: <https://doi.org/10.51403/0868-2836/2024/1843>. Accessed: 08/05/2025

[3] MIMS [Internet]. Imojev vaccine, Japanese encephalitis, Full prescribing info. Available at: <https://www.mims.com/malaysia/drug/info/imojev?type=full>

[4] Mohan Babu Appaiahgari, Sudhanshu Vрати. IMOJEV: a yellow fever virus-based novel Japanese encephalitis vaccine, *Pubmed*, 2010 Dec; 9(120): 1371-84.

[5] Guy B, Guirakhoo F, Barban V, Higgs S, Monath TP, Lang J. Preclinical and clinical development of YFV 17D-based chimeric vaccines against dengue, West Nile and Japanese encephalitis viruses. *Vaccine* 2010; 28: 632-649.

[6] Yongxin Yu. Development of Japanese Encephalitis attenuated live vaccine virus SA14- 14-2 and its characteristics. *Intechopen.com*, January 9<sup>th</sup>, 2013. Available at: <https://www.intechopen.com/chapters/40757>

[7] SOP VR 03-21 (NICVB): Quy trình chuẩn thử nghiệm công hiệu, ổn định nhiệt vắc xin Imojev

[8] Nguyễn Việt Anh và cộng sự. Validation of potency test of new generation Japanese Encephalitis vaccine Imojev bby plaque forming unit (PFU) method. Journal of Control Vaccines and Biologicals, Vol 2, No.3, 2022.

[9] SOP VR03-25 (NICVB): Quy trình chuẩn pha dung dịch crystal violet

[10] SOP KĐQG-34 (NICVB): Quy trình chuẩn thẩm định quy trình