

Vi TYPHOID CONJUGATE VACCINE TYViVAC-TT: RESEARCH TRENDS AND IMPLEMENTATION IN VIETNAM

**Dam Thi Thu Ngan^{1*}, Tran Thi Nghia¹, Hoang Thi To Loan¹,
Tran Thi Kim Ngan¹, Fernandez Castillo Sonsire², Gonzalez Rodriguez Humberto²**

¹ Vaccine company limited of DaLat Pasteur

² Finlay Vaccine Institute - Cuba

Received 10 October 2025

Accepted 17 December 2025

Abstract: In the global trend of developing new-generation vaccines, conjugate vaccines are considered a promising solution to overcome several limitations of unconjugated polysaccharide vaccines by enhancing efficacy, prolonging immune memory, and expanding the target population, particularly in children under two years of age, thereby contributing to community health protection. Along with above trend, DAVAC implemented and researched to establish a production process for the Vi typhoid conjugate vaccine (TYViVAC-TT), set in-house specification, QC procedures and evaluate vaccine quality. The resulting product met in-house specification and approved by NICVB. Preclinical evaluation on experiment animals demonstrated that the vaccine was safe, non-toxic, and free of abnormal reactions. Immunogenicity studies confirmed that the vaccine elicited a robust antibody response with 100% seroconversion after two doses, higher than the Vi polysaccharide vaccine. The successful establishment of Vi typhoid conjugate vaccine production process in Vietnam along with preclinical evaluation provides a scientific basis for clinical trials and orientation toward industrial-scale development.

Keywords: Typhoid vaccine; Vi polysaccharide; Conjugate vaccine; Tetanus toxoid.

* Corresponding author:
E-mail address: thungankd2024@gmail.com
<https://doi.org/10.56086/jcvb.v5i4.235>

VẮC XIN THƯƠNG HÀN VI CỘNG HỢP TYViVAC-TT: XU HƯỚNG NGHIÊN CỨU VÀ TRIỂN KHAI TẠI VIỆT NAM

Đàm Thị Thu Ngân^{1*}, Trần Thị Nghĩa¹, Hoàng Thị Tố Loan¹, Trần Thị Kim Ngân¹,
Fernandez Castillo Sonsire², Gonzalez Rodriguez Humberto²

¹ Công ty TNHH MTV Vắc xin Pasteur Đà Lạt

² Viện Vắc xin Finlay - Cuba (Instituto Finlay De Vacunas - Cuba)

Nhận ngày 10 tháng 10 năm 2025

Chấp nhận đăng ngày 17 tháng 12 năm 2025

Tóm tắt: Trong xu hướng toàn cầu về phát triển vắc xin thế hệ mới, vắc xin cộng hợp được xem là giải pháp khắc phục và triển vọng cho vắc xin polysaccharide nhằm tăng hiệu quả, kéo dài trí nhớ miễn dịch và mở rộng đối tượng sử dụng, đặc biệt ở trẻ dưới 2 tuổi, góp phần bảo vệ sức khỏe cộng đồng. Cùng với xu hướng trên, DAVAC đã triển khai nghiên cứu nhằm xây dựng quy trình sản xuất vắc xin Thương hàn Vi cộng hợp (TYViVAC-TT); thiết lập tiêu chuẩn cơ sở, quy trình kiểm định và đánh giá chất lượng vắc xin. Sản phẩm tạo ra từ quy trình xây dựng đạt tiêu chuẩn cơ sở và được NICVB công nhận. Đánh giá tiền lâm sàng trên các mô hình động vật thí nghiệm cho thấy vắc xin có độ an toàn cao, không độc tính và không gây phản ứng bất thường. Kết quả nghiên cứu miễn dịch chứng minh vắc xin tạo đáp ứng kháng thể mạnh mẽ với tỉ lệ chuyển đổi huyết thanh đạt 100 % sau 2 liều tiêm và vượt trội so với vắc xin Thương hàn Vi đơn. Việc nghiên cứu xây dựng thành công quy trình sản xuất vắc xin Thương hàn Vi cộng hợp tại Việt Nam và việc đánh giá tiền lâm sàng là cơ sở khoa học cho thử nghiệm lâm sàng và định hướng phát triển quy mô công nghiệp.

Từ khóa: Vắc xin Thương hàn; Vi polysaccharide; Vắc xin cộng hợp; Giải độc tố Uốn ván.

1. Đặt vấn đề

Trên thế giới, xu hướng nghiên cứu và sản xuất vắc xin đang chuyển dịch mạnh mẽ sang các công nghệ vắc xin thế hệ mới, tiêu biểu như vắc xin cộng hợp, tái tổ hợp, vector virus và mRNA. Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) khuyến nghị ưu tiên phát triển các loại vắc xin bền vững, giá thành hợp lý, đồng thời tích hợp nhiều kháng nguyên trong cùng một sản phẩm nhằm nâng cao hiệu quả phòng bệnh. Tại Việt Nam nhiều nghiên cứu và sản xuất vắc xin thế hệ mới đã được triển khai, hướng tới mục tiêu chủ động nguồn cung cấp, nâng cao công nghệ và đáp ứng nhu cầu phòng bệnh trong nước cũng như hội nhập với xu hướng phát triển toàn cầu [1].

Cùng với xu hướng trên, TYViVAC-TT được Công ty TNHH MTV Vắc xin Pasteur Đà Lạt (DAVAC) nghiên cứu đến giai đoạn thử nghiệm tiền lâm sàng dựa trên nền tảng của vắc xin Thương hàn Vi đơn gắn với một Protein mang để tạo phức cộng hợp Vi-TT làm thay đổi kích thước phân tử Vi từ đó thay đổi cơ chế miễn dịch của vắc xin Thương hàn Vi tức cơ chế miễn dịch có sự tham gia của tế bào T nên kéo dài trí nhớ miễn dịch. Vắc xin cộng hợp này thích hợp với đặc điểm cơ chế miễn dịch ở trẻ sơ sinh nên có thể sử dụng với tất cả các đối tượng thuộc mọi lứa tuổi [2,3].

Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với hai mục tiêu:

(1) Nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất Vắc xin Thương hàn Vi (VXTHVi) cộng hợp quy mô Pilot và sản xuất các lô VXTHVi cộng hợp đạt chất lượng thử nghiệm tiền lâm sàng.

(2) Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và quy trình kiểm định VXTHVi cộng hợp.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu: Vắc xin Thương hàn Vi cộng hợp.

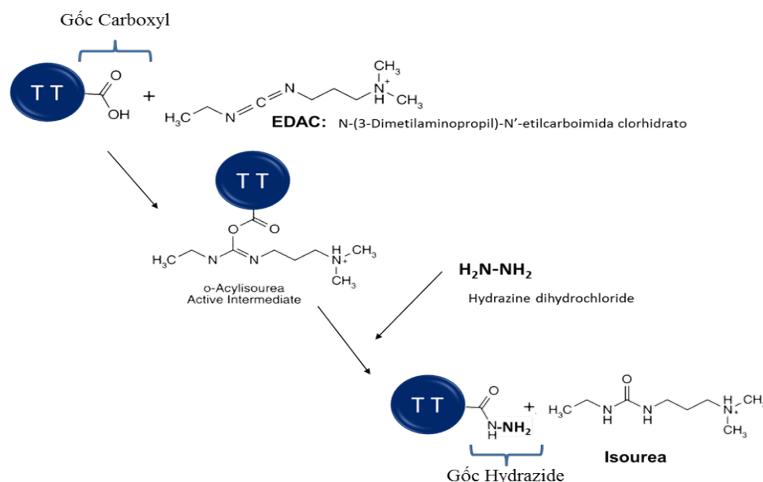
2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu cải biên kháng nguyên Vi polysaccharide (KN ViPS) thành kháng nguyên Vi thích hợp (Vi_{CH}) trong phản ứng cộng hợp Vi-TT

Sử dụng phương pháp thủy phân với tác nhân là HClO để cắt mảnh phân tử ViPS, sau đó dùng phương pháp lọc phân tử để thu nhận các phân tử KN ViPS có kích thước 10-100 kDa là các phân tử có kích thước phù hợp để cộng hợp với TT [4].

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu cải biên TT thành TT hoạt hóa (TT_{-HH}) có cấu trúc phù hợp trong phản ứng cộng hợp Vi-TT

EDAC phản ứng với nhóm -COOH của TT tạo thành chất trung gian O-acylisourea hoạt động, khi kết hợp với Hydrazine có nhóm NH₂, nhóm này thay thế EDAC tạo thành TT hoạt hóa (TT modified) và giải phóng Isourea. TT hoạt hóa sẵn sàng cho quá trình cộng hợp [5].



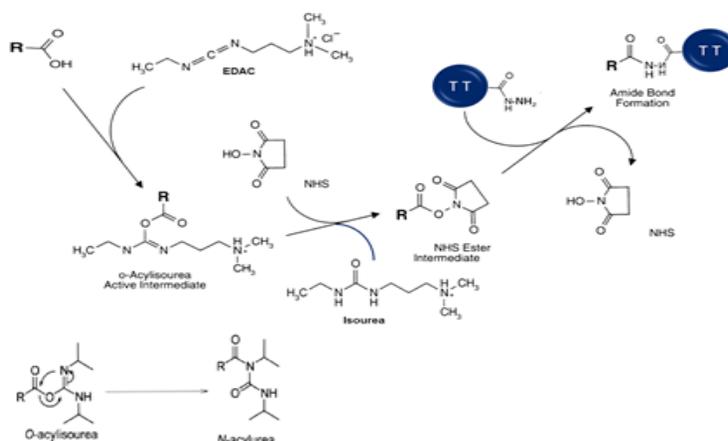
Hình 1. Cơ chế của phản ứng hoạt hóa tạo dẫn xuất TT_{-HH}

2.2.3. Phương pháp cộng hợp Vi và TT

Hydrazin (HH) với vai trò là cầu nối cộng hợp hai phân tử Vi và TT. Vi polysaccharide sau khi phản ứng với hỗn hợp EDAC và NHS tạo thành chất trung gian NHS Ester giải phóng Isourea. Chất trung gian này phản ứng với TT hoạt hóa tạo thành phức cộng hợp Vi-TT qua liên kết

amide -NH-NH- giải phóng NHS.

Trên cơ sở nguyên lý này tiến hành các công đoạn khảo sát các điều kiện của phản ứng cộng hợp giữa TT_{-HH} và Vi_{CH} như: tỷ lệ TT/Vi tham gia phản ứng, nồng độ dung dịch hoạt hóa và các chất sử dụng trong dung dịch phản ứng, thời gian, nhiệt độ và pH của phản ứng cộng hợp [6].



Hình 2. Phản ứng cộng hợp Vi-TT

2.2.4. Phương pháp nghiên cứu xây dựng công thức pha vắc xin, tiêu chuẩn cơ sở (TCCS) và các quy trình kiểm định VXTHVi cộng hợp

Cơ sở tham khảo:

- Hướng dẫn WHO [6-8].
- TCCS, quy trình kiểm định, công thức pha vắc xin: TyViVac - DAVAC; Typbar - TCV của Bharat Biotech; Peda Typh™ của Bio - Med Private Limited và Conjugate Vi-TT của Shantha, Biotechnis, Ấn Độ.

- Kết quả nghiên cứu về các thành phần của VXTHVi cộng hợp, đánh giá đáp ứng miễn dịch (ĐUMD) ở hàm lượng Vi khác nhau trên động vật thí nghiệm (ĐVTN).

2.2.5. Phương pháp đánh giá tính an toàn, tính sinh miễn dịch và độc tính của VXTHVi cộng hợp trên ĐVTN

- ❖ Phương pháp đánh giá tính an toàn:

- Thực hiện tiêm ổ bụng trên chuột nhắt trắng và chuột lang. Theo dõi trong vòng 02 giờ đầu sau tiêm để phát hiện các triệu chứng bất thường.

- Hằng ngày cân trọng lượng chuột vào giờ nhất định và theo dõi tình trạng sức khỏe để phát hiện triệu chứng lâm sàng, ghi

nhận kết quả nếu có những biểu hiện bất thường. Thời gian theo dõi 7 ngày.

- ❖ Phương pháp đánh giá tính sinh miễn dịch: Sử dụng chuột nhắt trắng, mỗi chuột/nhóm được tiêm 50 μ l mẫu, tiêm dưới da gáy, 2 mũi tiêm cách nhau 14 ngày (T1 và T14) lấy máu 4 lần (T0, T14, T28 và T42). Đánh giá đáp ứng miễn dịch (ĐUMD) kháng thể kháng Vi bằng phương pháp ELISA [6].

- ❖ Phương pháp đánh giá độc tính:

- **Thử nghiệm chất gây sốt:** Sử dụng 3 thỏ/mẫu, tiêm tĩnh mạch cho mỗi thỏ 1 ml/1 kg cân nặng với nồng độ của vắc xin 25 ng/ml. Tiêm 2 mũi cách nhau 7 ngày. Sau khi tiêm tiến hành đo và theo dõi nhiệt độ thỏ ở 3, 6, 24, 48, 72 giờ [9].

- **Thử nghiệm độc tính cấp:** Chuột nhắt và thỏ được tiêm mẫu 2 lần cách nhau 7 ngày [6]. Sau tiêm quan sát, theo dõi:

- + Trong 14 ngày với các dấu hiệu tụ máu, thay đổi ngoại hình và sống sót.

- + Cân nặng theo dõi vào ngày 0, 3, 7, 8, 12 và 14.

- + Mức độ tiêu thụ thức ăn: ngày 0 - 1, 2 - 3, 7 - 8, 12 - 13 và 13-14.

- Thử nghiệm độc tính toàn thân: Chuột nhắt và thỏ được tiêm mẫu 4 lần cách nhau 7 ngày [6]. Sau tiêm quan sát, theo dõi:
 - + Phản ứng toàn thân.
 - + Cân nặng ngày 0, 7, 14, 21 và 28.
 - + Mức độ tiêu thụ thức ăn ngày 0 - 1, 7 - 8, 13 - 14, 21 - 22 và ngày 27-28.
 - + Xét nghiệm máu ngày 0 và 28: huyết học và sinh hóa.
 - + Giải phẫu ngày 28: khám xét đại thể

và vi thể.

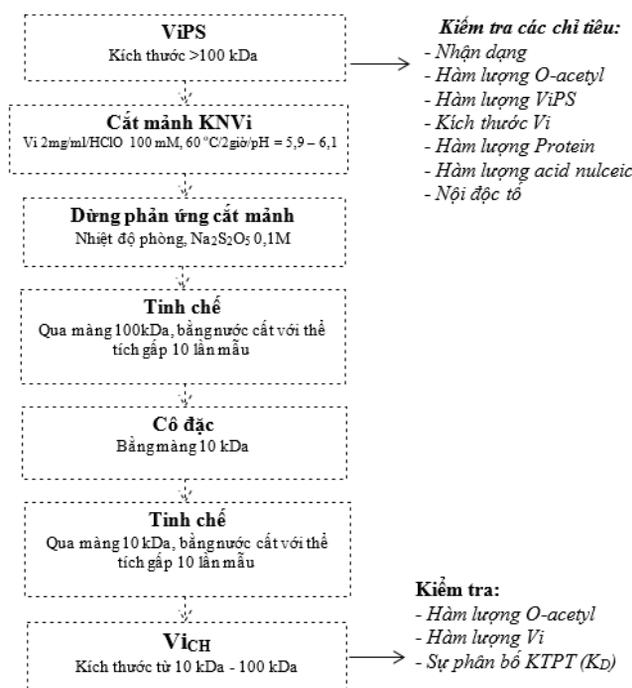
2.2.6. Phương pháp xử lý, phân tích số liệu

Số liệu thu thập được xử lý (TB, ± SD, % CV) bằng phần mềm Microsoft excel.

3. Kết quả

3.1. Kết quả nghiên cứu cải biên KN ViPS thành Vi_{CH} trong phản ứng cộng hợp Vi-TT

3.1.1. Quy trình sản xuất và tinh chế Vi_{CH}



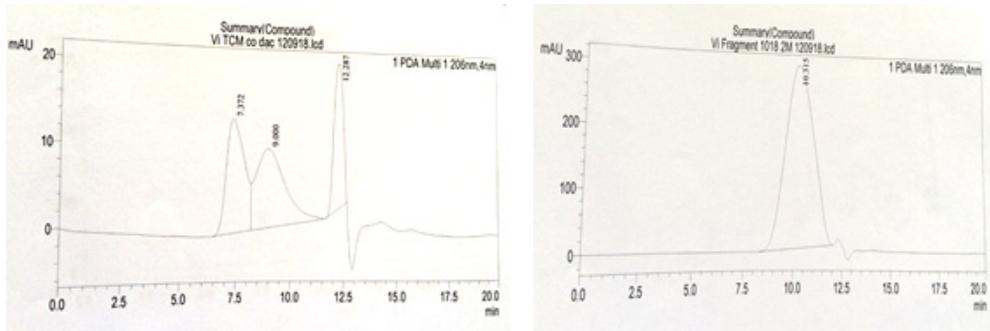
Hình 3. Sơ đồ quy trình cắt mảnh, tinh chế ViPS thành Vi_{CH}

3.1.2. Kết quả đánh giá chất lượng các lô Vi_{CH}

Bảng 1. Kết quả đánh giá chất lượng các lô Vi_{CH}

Chỉ tiêu	Tiêu chuẩn	Các lô Vi _{CH}			Trung bình
		01 CM-CĐ/TN	02 CM-CĐ/TN	03 CM-CĐ/TN	
Hàm lượng O-acetyl	≥ 40 μmol/ml	72,027	71,836	74,535	72,80 ± 1,51
Hàm lượng Vi	≥ 10 mg/ml	18,65	18,61	19,30	18,85 ± 0,39
Sự phân bố kích thước phân tử Vi	K _D > 0,3	0,413	0,422	0,395	0,410 ± 0,014

Qua bảng 1, các chỉ tiêu để kiểm soát chất lượng 3 lô V_{iCH} ổn định và đạt TCCS, từ đó quy trình được thiết lập hiệu quả, có thể áp dụng cho các bước tiếp theo của nghiên cứu. Hiệu quả của quá trình cắt mảnh được thể hiện qua sắc ký đồ ở hình 4



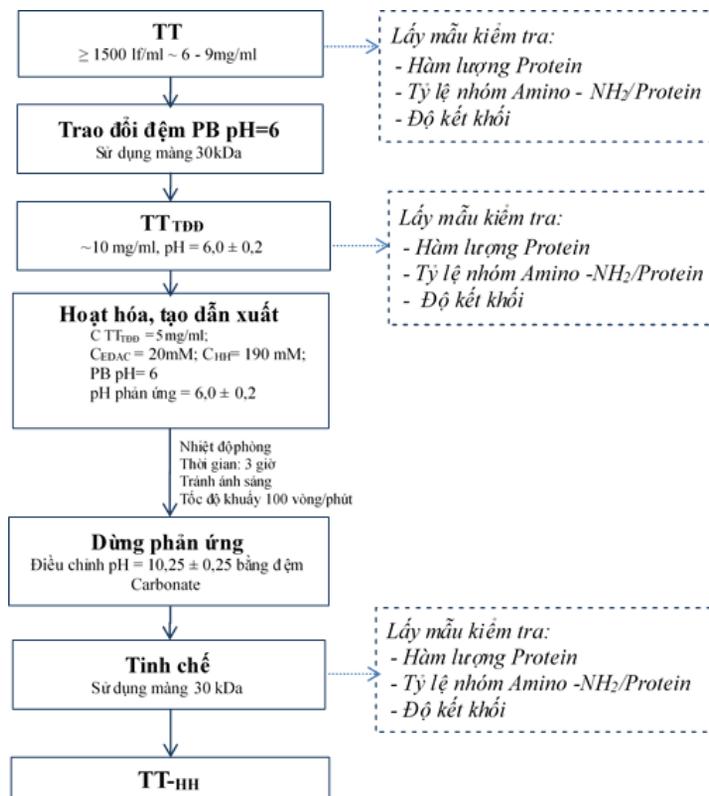
KN Vi trước cắt mảnh

KN Vi sau cắt mảnh

Hình 4. Sắc ký đồ KN Vi trước và sau khi cắt mảnh trên HPLC

3.2. Kết quả nghiên cứu cải biên TT thành TT hoạt hóa TT_{-HH}

3.2.1. Quy trình tạo dẫn xuất TT_{-HH}



Hình 5. Sơ đồ quy trình tinh chế TT thành dẫn xuất TT_{-HH}

3.2.2. *Kết quả đánh giá chất lượng TT_{HH} của 3 lô sản xuất thử nghiệm*

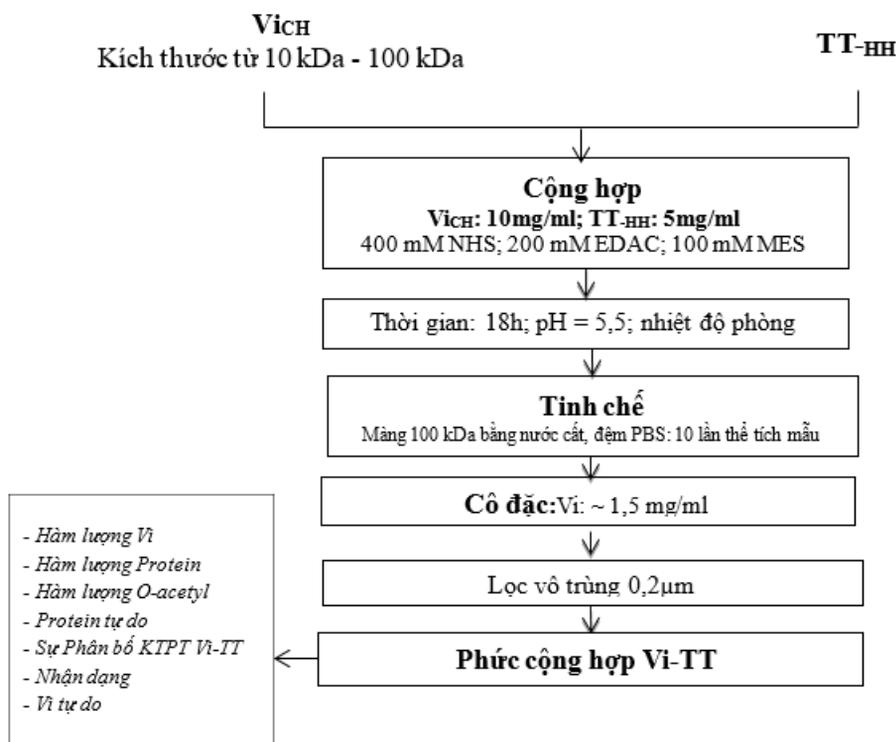
Bảng 2. Kết quả đánh giá chất lượng TT_{HH} của 3 lô sản xuất thử nghiệm

STT	Chỉ tiêu kiểm tra	Tiêu chuẩn	Lô dẫn xuất TT _{HH}		
			01TT _{HH} /TN	02TT _{HH} /TN	03TT _{HH} /TN
1	Hàm lượng Protein	≥ 20 mg/ml	52,6	53,2	49,6
			51,80 ± 1,93		
2	Tỷ lệ nhóm Amino-NH ₂ /Protein	≥ 50 mol/mol	82,7	82,8	82,4
			82,63 ± 0,21		
3	Độ kết khối	≤ 5 %	1,453	1,608	1,552
			1,538 ± 0,078		

Qua bảng 2, Các chỉ tiêu Hàm lượng Protein, Tỷ lệ nhóm Amino- NH₂/Protein, Độ kết khối của 3 lô thử nghiệm đạt tiêu chuẩn và đủ điều kiện tham gia phản ứng cộng hợp.

3.3. Kết quả nghiên cứu tạo phức cộng hợp Vi-TT

3.3.1. Quy trình cộng hợp Vi - TT



Hình 6. Sơ đồ quy trình cộng hợp Vi-TT

3.3.2. Kết quả đánh giá cộng hợp Vi - TT

Bảng 3. Kết quả đánh giá chất lượng các lô cộng hợp Vi-TT

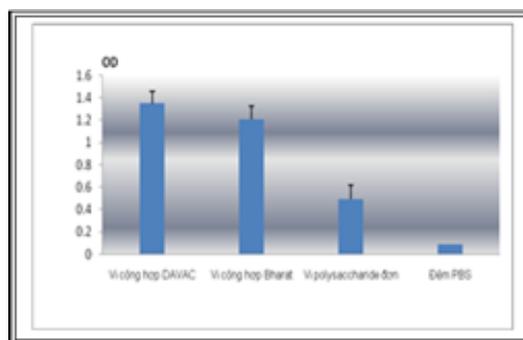
Stt	Chỉ tiêu kiểm tra	Tiêu chuẩn	Lô phức cộng hợp		
			01CH/TN	02CH/TN	03CH/TN
1	Nhận dạng	Dương tính	Dương tính	Dương tính	Dương tính
2	HL O-acetyl	$\geq 1,2 \mu\text{mol/ml}$	1,658	1,712	1,689
			$1,686 \pm 0,027$		
3	HL Vi	$\geq 700 \mu\text{g/ml}$	1072,6	1122,0	1076,0
			$1090,20 \pm 27,59$		
4	HL Vi tự do	$\leq 20 \%$	18,96	17,85	18,07
			$18,29 \pm 0,59$		
5	HL Protein	$\geq 500 \mu\text{g/ml}$	716,0	692,5	704,0
			$704,17 \pm 11,75$		
6	Protein tự do	$\leq 10 \%$	6,282	5,973	6,091
			$6,115 \pm 0,156$		
7	K_D	$K_D \leq 0,3$	0,251	0,262	0,255
			$0,256 \pm 0,006$		

Qua bảng 3, kết quả kiểm tra chất lượng 3 lô phức cộng hợp Vi-TT cho thấy: cả 7 chỉ tiêu kiểm tra đều đạt TCCS đã xây dựng. Điều này chứng minh quy trình tạo phức cộng hợp Vi-TT phù hợp để pha vắc xin.

3.4. Kết quả nghiên cứu xây dựng công thức pha vắc xin, TCCS và quy trình kiểm định VXTHVi cộng hợp

3.4.1. Kết quả nghiên cứu quy trình pha VXTHVi cộng hợp

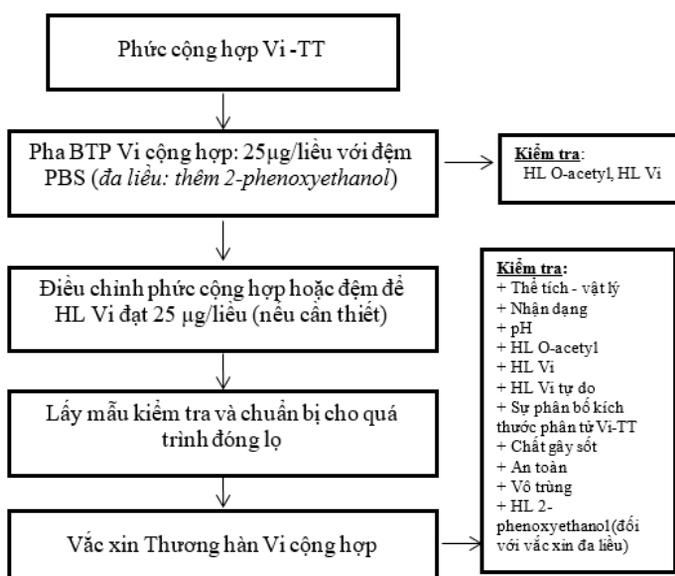
Đề pha và xác định công thức VX cần lựa chọn dung dịch đệm, pH, chất bảo quản, tá dược. Sau khi có kết quả, tiến hành lựa chọn liều lượng KN/liều thông qua khả năng tạo miễn dịch trên ĐVTN. Kết quả so sánh mức độ ĐUMD với các nhóm vắc xin đối chứng:



Hình 7. So sánh mức độ ĐUMD của VXTHVi cộng hợp của DAVAC với VXTHVi cộng hợp Typbar-TCV của Bharat Biotech và Vi đơn ở cùng nồng độ 2,5 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$ /chuoét.

Nhóm VXTHVi cộng hợp có đáp ứng miễn dịch cao hơn nhóm VXTHVi đơn: DAVAC hơn ~ 2,7 lần, Bharat hơn ~ 2,4 lần. VXTHVi cộng hợp của DAVAC có đáp ứng miễn dịch cao hơn VXTHVi cộng hợp của Bharat.

Trên cơ sở chọn liều pha, dung dịch đệm cũng như chất bảo, quy trình pha chế VXTHVi cộng hợp được xây dựng như sau:



Hình 8. Sơ đồ quy trình pha VXTHVi cộng hợp

3.4.2. Kết quả xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và quy trình kiểm định VXTHVi cộng hợp

Bảng 4. Bảng tiêu chuẩn cơ sở và phương pháp kiểm tra VXTHVi cộng hợp

Stt	Chỉ tiêu	Tiêu chuẩn	Phương pháp kiểm định	Tài liệu tham chiếu
1	Cảm quan	Dung dịch không màu trong suốt, không lẫn vật thể lạ.	Quan sát bằng mắt.	- Dược điển Việt Nam V, 2017. - WHO Technical Report Series, No. 987, 2014, Annex 3.
2	Thể tích	- Đơn liều: 0,57 - 0,67 ml/ lọ - Đa liều: 10,3 - 10,7 ml/ lọ	Phương pháp cân	- SOP, Protocol của Viện Finlay - Cuba.
3	pH	6,5 - 7,5	Máy đo pH	
4	Vô khuẩn	Không được phép có vi khuẩn, nấm trong 14 ngày kiểm tra.	Cấy trực tiếp lên 2 loại môi trường: Thioglycolate và TSB	- SOP của DAVAC

5	An toàn không đặc hiệu	Chuột khỏe mạnh, lên cân, không có biểu hiện bệnh lý và không có chuột chết sau khi tiêm vắc xin ít nhất 7 ngày.	Thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt.
6	Hàm lượng O-acetyl	0,017 - 0,034 $\mu\text{mol}/\text{liều}$	Hestrin
7	Hàm lượng Vi polysaccharide	25 $\mu\text{g}/\text{liều} \pm 30\%$	Điện di miễn dịch Rocket
8	Hàm lượng Vi polysaccharide tự do	$\leq 20\%$	Trắc quang so màu
9	Sự phân bố kích thước phân tử Vi-TT (K_p)	$\leq 0,3$	HPSEC TSK 5000
10	Nhận dạng	Dương tính	Dot blot
11	Chất gây sốt	Không được có	Thực hiện trên thỏ
12	Hàm lượng 2-Phenoxyethanol (đối với vắc xin đa liều)	$\leq 4\text{ mg}/\text{liều}$	HPLC trên cột C18

3.4.3. Kết quả kiểm tra 3 lô VXTHVi cộng hợp

Bảng 5. Bảng kết quả kiểm tra 3 lô VXTHVi cộng hợp

Stt	Chỉ tiêu kiểm tra	Kết quả kiểm tra			Trung bình
		Lô 01/TN	Lô 02/TN	Lô 03/TN	
1	Thể tích - vật lý	Dung dịch không màu trong suốt, không lẫn vật thể lạ, thể tích $\geq 10,3\text{ ml}/\text{lọ}$			-
2	pH	7,21	7,22	7,18	$7,20 \pm 0,02$
3	An toàn không đặc hiệu	Chuột khỏe mạnh lên cân sau 7 ngày theo dõi, không có biểu hiện bệnh lý.			-
4	Vô trùng	Không có vi khuẩn, nấm trong 14 ngày kiểm tra.			-
5	Hàm lượng O-acetyl ($\mu\text{mol}/\text{liều}$)	0,021	0,021	0,020	$0,021 \pm 0,001$
6	Hàm lượng Vi ($\mu\text{g}/\text{liều}$)	22,44	21,18	22,18	$21,93 \pm 0,67$
7	Hàm lượng Vi tự do (%)	18,85	17,88	18,17	$18,30 \pm 0,50$
8	Sự phân bố KTPT Vi-TT (K_p)	0,250	0,270	0,260	$0,26 \pm 0,01$
9	Nhận dạng	Dương tính			-
10	Chất gây sốt	Không có			-
11	Hàm lượng 2-Phenoxyethanol (mg/liều)	3,50	3,54	3,51	$3,52 \pm 0,02$

Kết quả kiểm tra cho thấy các chỉ tiêu kiểm tra chất lượng 3 lô VXTHVi cộng hợp đồng đều và đạt TCCS.

3.5. Kết quả đánh giá tính an toàn, tính

sinh miễn dịch và độc tính của VXTHVi cộng hợp trên ĐVTN

3.5.1. Kết quả đánh giá tính an toàn không

đặc hiệu

Bảng 6. Bảng tổng hợp kết quả thử nghiệm an toàn không đặc hiệu

Mẫu thử	ĐVTN	Số chuột chết	Trọng lượng trung bình ngày (0)	Trọng lượng trung bình ngày (7)	TL tăng trọng (%)	Kết luận
Lô 01/DT-1	Chuột nhắt	0/15	18,92 ± 0,77	26,73 ± 1,96	41,31	Đạt
Lô 02/DT-1		0/15	18,93 ± 0,69	26,77 ± 1,66	41,41	Đạt
Lô 03/DT-1		0/15	18,98 ± 0,63	26,84 ± 1,32	41,40	Đạt
Lô 01/DT-20		0/15	19,05 ± 0,69	27,11 ± 1,90	42,35	Đạt
Lô 02/DT-20		0/15	19,15 ± 0,67	27,14 ± 0,96	41,69	Đạt
Lô 03/DT-20		0/15	19,26 ± 0,62	27,08 ± 1,08	40,59	Đạt
PBS		0/15	18,94 ± 0,43	26,78 ± 0,77	41,56	Đạt
PBS+CBQ		0/15	18,94 ± 0,55	26,78 ± 0,96	41,39	Đạt
Lô 01/DT-1	Chuột lang	0/6	309,17 ± 25,77	351,67 ± 32,04	13,75	Đạt
Lô 02/DT-1		0/6	295,00 ± 29,66	331,67 ± 17,51	12,43	Đạt
Lô 03/DT-1		0/6	307,50 ± 28,94	345,00 ± 22,58	12,20	Đạt
Lô 01/DT-20		0/6	323,33 ± 10,80	359,17 ± 11,14	11,08	Đạt
Lô 02/DT-20		0/6	295,83 ± 16,56	332,50 ± 13,69	12,39	Đạt
Lô 03/DT-20		0/6	312,50 ± 18,10	350,00 ± 17,32	12,00	Đạt
PBS		0/6	301,67 ± 9,31	339,17 ± 4,92	12,43	Đạt
PBS+CBQ		0/6	312,50 ± 16,36	350,83 ± 9,17	12,27	Đạt

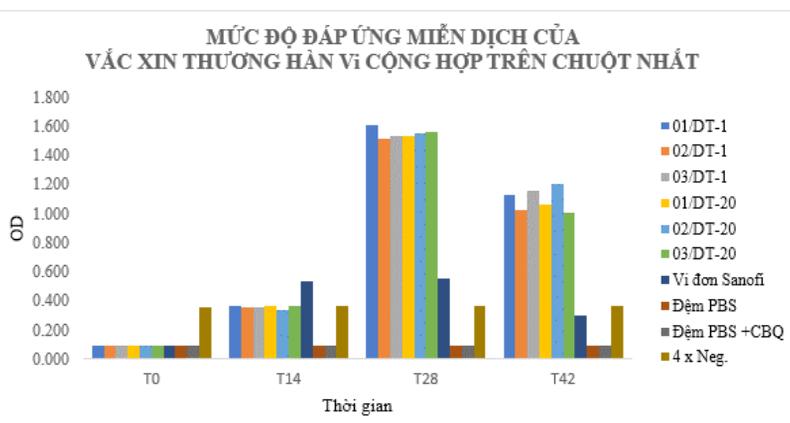
Thử nghiệm an toàn không đặc hiệu các lô VXTHVi cộng hợp trên chuột lang và chuột nhắt đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V, 2017: tất cả chuột sống khỏe mạnh, lên cân và không có dấu

hiệu bệnh lý hay bất cứ biểu hiện nào khác trong 7 ngày theo dõi.

3.5.2. Kết quả đánh giá tính sinh miễn dịch của các lô VXTHVi cộng hợp dự tuyển trên chuột nhắt

Bảng 7. Kết quả mức độ ĐU'MD của VXTHVi cộng hợp trên chuột nhất sau 3 lần thử nghiệm (TN)

Mẫu thử	OD TRUNG BÌNH			
	T0	T14	T28	T42
VXTHVi CH 01/DT-1	0,088 ± 0,001	0,363 ± 0,006	1,604 ± 0,013	1,128 ± 0,059
VXTHVi CH 02/DT-1	0,088 ± 0,001	0,352 ± 0,011	1,512 ± 0,204	1,019 ± 0,096
VXTHVi CH 03/DT-1	0,090 ± 0,001	0,354 ± 0,010	1,535 ± 0,040	1,157 ± 0,055
VXTHVi CH 01/DT-20	0,089 ± 0,001	0,364 ± 0,005	1,531 ± 0,188	1,061 ± 0,078
VXTHVi CH 02/DT-20	0,088 ± 0,001	0,336 ± 0,038	1,548 ± 0,119	1,204 ± 0,103
VXTHVi CH 03/DT-20	0,090 ± 0,002	0,360 ± 0,010	1,559 ± 0,177	1,004 ± 0,182
VXTHVi đơn Sanofi	0,088 ± 0,001	0,534 ± 0,048	0,522 ± 0,012	0,302 ± 0,01
Đệm PBS	0,090 ± 0,002	0,090 ± 0,001	0,090 ± 0,001	0,090 ± 0,001
Đệm PBS+CBQ	0,089 ± 0,001	0,089 ± 0,001	0,089 ± 0,001	0,090 ± 0,001
4 x Neg.	0,354 ± 0,004	0,361 ± 0,006	0,366 ± 0,017	0,364 ± 0,004

**Hình 9. Biểu đồ mức độ ĐU'MD của VXTHVi cộng hợp trên chuột nhất sau 3 lần TN****Bảng 8. Tỷ lệ ĐU'MD trung bình của VXTHVi cộng hợp trên chuột 3 lần TN**

Mẫu thử	Tỷ lệ đáp ứng miễn dịch (%)			
	T0	T14	T28	T42
VXTHVi CH 01/DT-1	0,0 ± 0,0	40,0 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
VXTHVi CH 02/DT-1	0,0 ± 0,0	33,3 ± 5,8	100 ± 0,0	93,3 ± 5,8
VXTHVi CH 03/DT-1	0,0 ± 0,0	33,3 ± 5,8	100 ± 0,0	100 ± 0,0
VXTHVi CH 01/DT-20	0,0 ± 0,0	40,0 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
VXTHVi CH 02/DT-20	0,0 ± 0,0	33,3 ± 5,8	100 ± 0,0	96,7 ± 5,8
VXTHVi CH 03/DT-20	0,0 ± 0,0	36,7 ± 5,8	100 ± 0,0	93,3 ± 5,8
VXTHVi đơn Sanofi	0,0 ± 0,0	73,3 ± 5,8	56,7 ± 5,8	33,3 ± 5,8

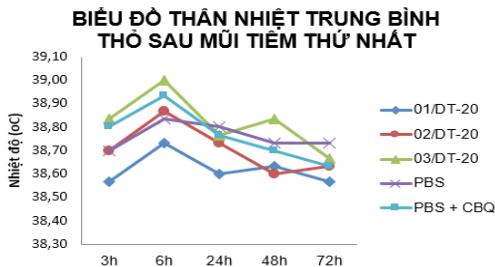
Tại thời điểm 14 ngày (sau 1 liều tiêm) các lô VX có mức độ và tỷ lệ ĐUMD thấp hơn mẫu đối chứng. Nhưng ở thời điểm 28 ngày (sau 2 liều tiêm) các lô VX có mức độ và tỷ lệ ĐUMD cao hơn mẫu đối chứng (2,97 lần và 1,8 lần) và đến thời điểm 42 ngày các lô VX có mức độ và tỷ lệ ĐUMD tiếp tục tăng cao hơn mẫu đối chứng (3,63 lần và 2,97 lần).

3.5.3. Kết quả đánh giá độc tính VXTHVi cộng hợp trên chuột nhắt

❖ Kết quả thử nghiệm chất gây sốt các lô VXTHVi cộng hợp:

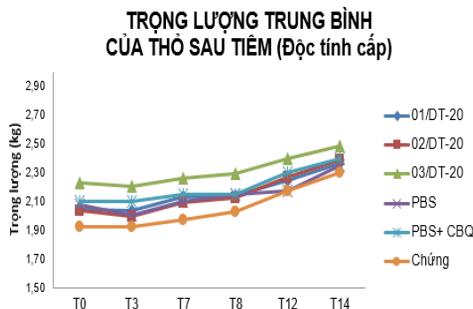
Đánh giá phản ứng tăng thân nhiệt sau tiêm:

- Sau mũi tiêm thứ nhất



Hình 10. Biểu đồ thân nhiệt TB của thỏ ở các thời điểm sau mũi tiêm thứ nhất

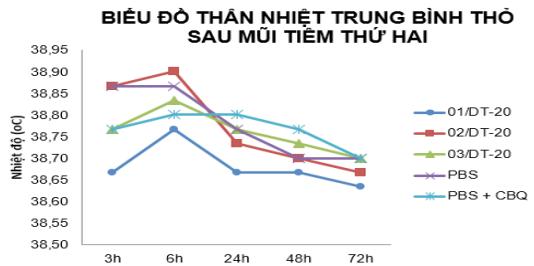
Sau mũi tiêm thứ nhất, thân nhiệt thỏ ở các lần đo nằm trong giới hạn bình thường (38,0 °C - 39,8 °C), sau 6 giờ nhiệt độ trung bình thỏ ở các lô VX và giả dược tăng nhẹ



Hình 12. Biểu đồ tăng trọng của thỏ và chuột sau 14 ngày theo dõi

(~ 0,3 - 0,4 %) so với 3 giờ. Đến 24h, 48h và 72h thân nhiệt của thỏ không tăng.

- Sau mũi tiêm thứ hai



Hình 11. Biểu đồ thân nhiệt TB của thỏ tại các thời điểm sau mũi tiêm thứ hai

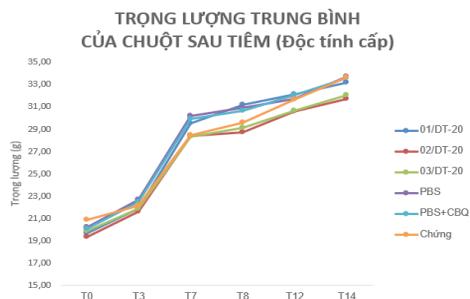
Sau mũi tiêm thứ hai, thân nhiệt thỏ ở các lần đo nằm trong giới hạn bình thường (38,0 °C - 39,8 °C), sau 6 giờ nhiệt độ trung bình thỏ tăng nhẹ (0,2 %) so với 3 giờ. Đến 24h, 48h và 72h thân nhiệt của thỏ không tăng.

→ Cả 3 lô VX và giả dược (PBS, PBS + CBQ) không có phản ứng sốt sau tiêm.

❖ Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của 3 lô VXTHVi cộng hợp

- Mức độ tiêu thụ thức ăn trung bình trong 1 ngày của thỏ và chuột nhắt sau 14 ngày theo dõi tương đối ổn định khi sử dụng cùng loại thức ăn (bánh chuột) và không có sự khác biệt về lượng thức ăn trung bình trong các nhóm tiêm vắc xin, giả dược và chứng.

- Kết quả đánh giá trọng lượng



Trong thời gian theo dõi trọng lượng thỏ và chuột ở ngày thứ 14 tăng ~1,15 lần (thỏ) và 1,6 lần (chuột) so với trọng lượng ban đầu, tương đương với nhóm giả dược và chứng.

- Không có dấu hiệu tụ máu tại vị trí tiêm, ngoại hình không có các biểu hiện bất thường.

❖ Kết quả nghiên cứu độc tính toàn thân

- Đánh giá các dấu hiệu lâm sàng

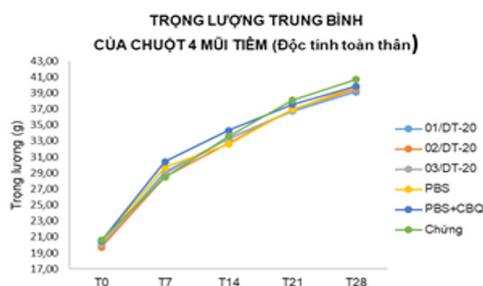
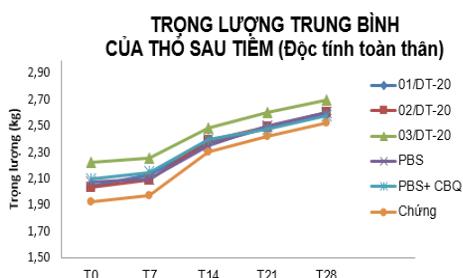
Quá trình theo dõi trong 28 ngày tất cả

các thỏ, chuột đều khỏe mạnh và hoạt động bình thường. Không phát hiện có biểu hiện bất thường nào.

- Đánh giá mức độ tiêu thụ thức ăn sau 4 mũi tiêm (28 ngày) trên thỏ và chuột nhất

Mức độ tiêu thụ thức ăn được tính trung bình sau các mũi tiêm cách nhau 1 tuần, trong suốt 4 tuần theo dõi không thấy sự khác biệt về lượng thức ăn trung bình giữa các nhóm.

- Đánh giá trọng lượng của ĐVTN sau 4 mũi tiêm (28 ngày)



Hình 13. Biểu đồ tăng trọng của thỏ và chuột tại các thời điểm theo dõi

Sau 4 mũi tiêm, trọng lượng của thỏ và chuột không bị ảnh hưởng và tăng so với trọng lượng ban đầu, không có sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm ĐVTN tiêm vắc xin và nhóm tiêm giả dược cũng như chứng âm. Như vậy, vắc xin không ảnh hưởng đến sự tăng trọng của thỏ và chuột.

- Kết quả xét nghiệm huyết học và sinh hóa máu

Các chỉ số về huyết học gồm WBC, RBC, HGB, HCT, PLT và chỉ số sinh hóa gồm AST, ALT, Ure, Creatin của thỏ sau tiêm vắc xin không có sự thay đổi so với trước tiêm và không có sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm tiêm vắc xin hay tiêm giả dược cũng như nhóm chứng, tất cả đều nằm trong giới hạn bình thường và không có sự

khác biệt với thời điểm trước tiêm.

- Kết quả giải phẫu bệnh

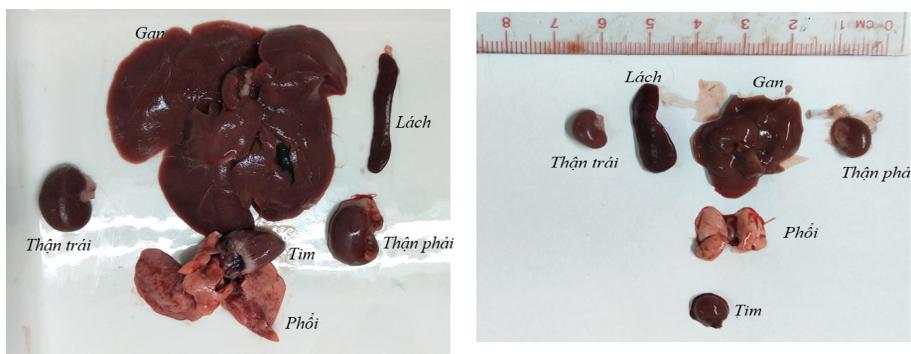
+ Quan sát đại thể

Giải phẫu ngày thứ 28: tất cả thỏ và chuột không có dấu hiệu thay đổi về mặt giải phẫu của các cơ quan được khảo sát như gan, thận, phổi tim, lá lách, cơ.

Hình thái bên ngoài: Không có u cục hay bất kỳ một biến đổi bất thường về màu sắc và hình dáng bên ngoài.

Diện cắt qua mô: Mật độ đều, không xuất huyết, phân bố các tuyến, mạch máu trong mô bình thường.

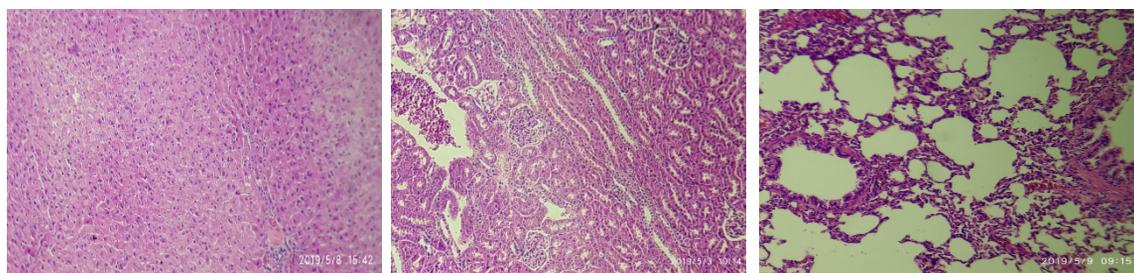
Trọng lượng mô tươi của các cơ quan của thỏ không chênh lệch nhiều giữa các nhóm tiêm vắc xin và nhóm tiêm giả dược cũng như nhóm chứng.



Hình 14. Hình thái bên ngoài, màu sắc các cơ quan của thỏ (trái) và chuột (phải)

+ Quan sát vi thể

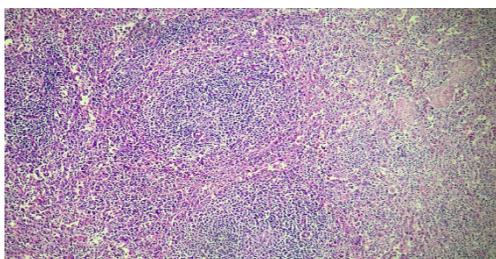
Cơ tại vùng tiêm: không ghi nhận dấu hiệu bất thường về vi thể của thỏ tại vùng tiêm.



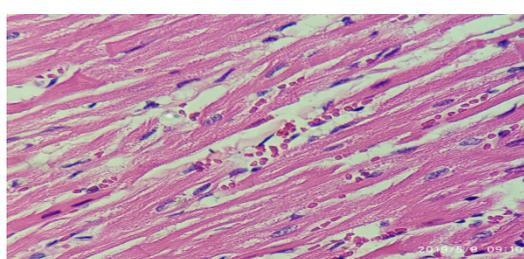
Hình ảnh gan bình thường

Hình ảnh thận bình thường

Hình ảnh phổi bình thường



Hình ảnh lách bình thường



Hình ảnh tim bình thường

Hình 15. Hình ảnh vi thể đại diện của các cơ quan khảo sát

Từ các hình ảnh trên nhận thấy gan, lách, thận (trái + phải), phổi, tim ở cả 24 thỏ không ghi nhận hình ảnh vi thể bất thường nghiêm trọng nào.

4. Bàn luận

Nghiên cứu đã xây dựng được nền tảng công nghệ cho vắc xin Thương hàn Vi cộng hợp, gồm ba hợp phần chính: Cải biên K_{NVi} PS thành V_{iCH} có kích thước thích

hợp để cộng hợp; Hoạt hóa TT thành dẫn xuất TT_{-HH} và tối ưu hóa phản ứng cộng hợp Vi-TT trong điều kiện có EDAC/NHS/MES. Quy trình được xây dựng trên cơ sở hướng dẫn của WHO và tham chiếu các vắc xin cộng hợp quốc tế.

Về nguyên lý hóa học, cách tiếp cận dùng HH làm cầu nối giúp biến TT thành TT-HH giàu nhóm chức ái nhân; EDAC/

NHS hoạt hóa nhóm carboxyl trên Vi tạo thành este hoạt hóa, từ đó hình thành liên kết amide bền vững trong phức Vi-TT.

Chất lượng phức cộng hợp đạt độ đồng nhất cao. Đối với TT-HH, hàm lượng protein trung bình $51,80 \pm 1,93$ mg/ml, tỷ lệ nhóm amino-NH₂/Protein $82,63 \pm 0,21$ mol/mol và độ kết khối $1,538 \pm 0,078$ % cho thấy bề mặt protein mang đã được “mở khóa” đủ vị trí gắn, đồng thời duy trì tính toàn vẹn cấu trúc để cộng hợp hiệu quả. Đối với phức Vi-TT, bảy chỉ tiêu kiểm tra đều trong giới hạn phản ánh mức độ cộng hợp cao, giảm tối đa chất mang không gắn.

Đối với thành phẩm các lô vắc xin đều đáp ứng TCCS đã ban hành. Điều này cho thấy công thức pha và quy trình đóng lọ đã ổn định; đồng thời độ biến thiên khi pha được kiểm soát tốt (CV < 10 %).

Dữ liệu an toàn và độc tính trên ĐVTN nhất quán: không có tử vong, không sốt hoặc bất thường lâm sàng; mức tiêu thụ thức ăn ổn định; trọng lượng cơ thể tăng theo thời gian. Sau 14, 28 ngày trọng lượng tăng ở ĐVTN và tương đương nhóm giả dược/chứng. Các chỉ số huyết học và sinh hóa nằm trong khoảng bình thường; quan sát đại thể và vi thể các cơ quan không ghi nhận biến đổi bệnh lý.

Về tính sinh miễn dịch, tại T14 (sau 1 mũi), mức đáp ứng của các lô dự tuyển thấp hơn vắc xin Vi đơn đối chứng (Sanofi), nhưng đến T28 (sau 2 mũi) mức độ ĐUMD vượt đối chứng khoảng 2,97 lần; tỷ lệ ĐUMD đạt 100 % so với 56,7 % ở đối chứng. Đến T42, tiếp tục gia tăng (~3,63 lần về mức đáp ứng; tỷ lệ đáp ứng ~93 - 100 % so với 33,3 % ở đối chứng). Điều này phù hợp với sinh lý đáp ứng miễn dịch phụ thuộc tế bào T của vắc xin cộng hợp:

cần “thời gian mồi” để hình thành trung tâm mầm và trí nhớ, nhưng sau liều nhắc, cường độ và độ “chín” kháng thể tăng rõ.

Ý nghĩa thực tiễn của nghiên cứu là Việt Nam đã làm chủ công nghệ sản xuất vắc xin cộng hợp, góp phần giảm phụ thuộc vào nguồn nhập khẩu và phù hợp với định hướng toàn cầu về phát triển vắc xin thế hệ mới.

5. Kết luận

Đã nghiên cứu xây dựng thành công quy trình sản xuất vắc xin Thương hàn Vi cộng hợp từ KN ViPS của chủng *Salmonella typhi* Ty2 và protein mang là giải độc tố Uôn ván (TT) của chủng *Clostridium tetani* của Harvard No. 49205, coded Y dựa trên liên kết cộng hóa trị giữa 2 phân tử hữu cơ thông qua cánh tay đòn Hydrazine dihydrochloride (HH), sản phẩm tạo ra từ quy trình xây dựng đạt TCCS, thử nghiệm tiền lâm sàng trên ĐVTN đạt tính an toàn, có khả năng sinh miễn dịch cao và không độc tính.

Đã xây dựng được tiêu chuẩn cơ sở và phương pháp kiểm định cho VX thành phẩm; Tiêu chí kiểm soát chất lượng và phương pháp kiểm tra cho các sản phẩm trung gian.

Khẳng định khả năng hòa nhập của Việt Nam với xu hướng toàn cầu trong phát triển vắc xin thế hệ mới, trong đó tiêu biểu là vắc xin cộng hợp.

Tài liệu tham khảo

- [1] Jin C, Gibani MM, Moore M, Juel HB, Jones E, Meiring J, et al. Efficacy and immunogenicity of a Vi-tetanus toxoid conjugate vaccine in the prevention of typhoid fever using a controlled human infection model of *Salmonella Typhi*: a randomised controlled, phase 2b trial. *Lancet*. 2017;390(10111):2472-80.

- [2] Lin FY, Ho VA, Khiem HB, Trach DD, Bay PV, Thanh TC, et al. The efficacy of a *Salmonella typhi* Vi conjugate vaccine in two-to-five-year-old children. *N Engl J Med*. 2001;344(17):1263-9.
- [3] Lin FY, Ho VA, Bay PV, Thanh TC, Van Bay H, Ha BK, et al. The epidemiology of typhoid fever in the Dong Thap Province, Mekong Delta region of Vietnam. *Am J Trop Med Hyg*. 2000;62(5):644-8.
- [4] Szu SC, Taylor DN, Trofa AC, Cadoz M, Loutan L, Vallée E, et al. Laboratory and preliminary clinical characterization of Vi capsular polysaccharide–protein conjugate vaccines. *Infect Immun*. 1994;62(10):4440-4.
- [5] Szu SC. Development of Vi conjugate—a new generation of typhoid vaccine. *Expert Rev Vaccines*. 2013;12(11):1273-86.
- [6] World Health Organization. Guidelines on the quality, safety and efficacy of typhoid conjugate vaccines. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Sixty-fourth report. Geneva: World Health Organization; 2014. (WHO Technical Report Series, No. 987, Annex 3).
- [7] World Health Organization. Recommendations for diphtheria, tetanus, pertussis and combined vaccines (Amendments 2003). In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fifty-fourth report. Geneva: World Health Organization; 2005. (WHO Technical Report Series, No. 927, Annex 5).
- [8] World Health Organization. Requirements for Vi polysaccharide typhoid vaccine. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-third report. Geneva: World Health Organization; 1994. (WHO Technical Report Series, No. 840, Annex 1).
- [9] Hội đồng dược điển - Dược thư Việt Nam. Dược điển Việt Nam V. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học; 2017.