Journal of Control Vaccines and Biologicals, Vol. 2, No. 1 (2022) 73 - 78

Research Paper

Research and Develop the Process of Establishing Quality Control Samples for Determination of Formaldehyde Content in Vaccine

Duong Thi Cam Le*, Canh Huyen Trang, Dam Thi Lieu

National Institute for Control of Vaccine and Biologicals, No 1 Nghiem Xuan Yem, Hoang Mai, Ha Noi

Received 3/2/2022

Accepted 15/3/2022

Abstract

Background/Purpose: Control sample is one of the important factors used to evaluate the validity of an experiment in quality control. The study is conducted with the goal of developing a process to establish a control sample for the test to determine the formaldehyde content of vaccines in accordance with the conditions of the department and to determine the standard used to evaluate the experimental value through the control sample

Methods: Empirical description research in the laboratory

Results: In our research, we have built the procedure to set up a quality control sample for determine the concentration of formaldehyde in vaccine as follow: Prepare 30 µg/ml formaldehyde standard solution. Determine the acceptable concentration value (Mean ±10%) of the standard formaldehyde solution through experiments result. The control sample (QC sample) is 30 µg/ml formaldehyde standard solution.

Conclusion: Successfully building a process to set up a control sample for the test to determine the formaldehyde content of the vaccine in accordance with the conditions of the department and determine the standard used to evaluate the test value through the control sample

Keywords: Control samples, QC samples, formaldehyde, vaccines.

* Corresponding author.
E-mail address: thicamleduong1969@gmail.com
https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i1.24

Xây dựng quy trình thiết lập mẫu kiểm soát dùng cho thử nghiệm xác định hàm lượng Formaldehyde trong vắc xin

Đường Thị Cẩm Lệ*, Cảnh Huyền Trang, Đàm Thị Liễu

Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế, Số 1 Nghiêm Xuân Yêm, Đại Kim, Hoàng Mai, Hà Nội

Nhận ngày 3 tháng 2 năm 2022

Chấp nhận đăng ngày 15 tháng 3 năm 2022

Tóm tắt

Đặt vấn đề/ Mục tiêu: Mẫu kiểm soát là một trong các nhân tố quan trọng được sử dụng để đánh giá giá trị của một thử nghiệm trong kiểm định chất lượng. Nghiên cứu được tiến hành với mục tiêu xây dựng được quy trình thiết lập mẫu kiểm soát cho thử nghiệm xác định hàm lượng formaldehyde trong vắc xin phù hợp với điều kiện của khoa và xác định tiêu chuẩn dùng để đánh giá giá trị thử nghiệm thông qua mẫu kiểm soát.

Phương pháp: Mô tả thực nghiệm trong phòng thí nghiệm.

Kết quả: Qua thiết lập nghiên cứu chúng tôi đã xây dựng được quy trình thiết lập mẫu kiểm soát dùng cho thử nghiệm xác định hàm lượng formaldehyde trong vắc xin như sau: Pha dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml, xác định giá trị nồng độ chấp thuận (TB±10%) của dung dịch formaldehyde chuẩn trên thông qua các kết quả thực nghiệm. Mẫu kiểm soát (mẫu QC) là dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml.

Kết luận: Đạt mục tiêu xây dựng được quy trình thiết lập mẫu kiểm soát cho thử nghiệm xác định hàm lượng formaldehyde trong vắc xin phù hợp với điều kiện của khoa và xác định tiêu chuẩn dùng để đánh giá giá trị thử nghiệm thông qua mẫu kiểm soát.

*Từ khóa**:** mẫu kiểm soát, mẫu QC, formaldehyde, vắc xin*

1. Đặt vấn đề

Theo các tiêu chuẩn ISO/IEC 17025:2005, GLP, NRA việc đảm bảo chất lượng kết quả thử nghiệm là một yêu cầu bắt buộc, và đối với các thử nghiêm hóa học cần phải có mẫu kiểm soát để đánh giá giá trị của thử nghiệm nhằm đảm bảo chất lượng kết quả thử nghiệm [1].

Vì vậy, nhằm kiểm soát và đảm bảo chất lượng kết quả thử nghiệm, chúng tôi tiến hành thực hiện nghiên cứu: Xây dựng quy trình thiết lập mẫu kiểm soát dùng cho thử nghiệm xác định hàm lượng formaldehyde trong vắc xin với mục tiêu:

1. Xây dựng được quy trình thiết lập mẫu kiểm soát cho thử nghiệm xác định hàm lượng formaldehyde trong vắc xin phù hợp với điều kiện của khoa.

2. Xác định tiêu chuẩn dùng để đánh giá giá trị thử nghiệm thông qua mẫu kiểm soát

2. Đối tượng nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml

Dung dịch mẫu thêm chuẩn (Dung dịch formaldehyde và mẫu thử được hỗn theo tỷ lệ 1:1)

2.2. *Thời gian nghiên cứu:* Từ tháng 7/2016 đến tháng 02/2017.

*Tác giả liên hệ.

E-mail address: thicamleduong1969@gmail.com

https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i1.24

2.3. *Phương pháp nghiên cứu:* Phương pháp mô tả thực nghiệm trong phòng thí nghiệm, phân tích hóa học định lượng, thống kê xử lý số liệu dùng phần mềm Microsft Excel.

2.4. Vật liệu phục vụ nghiên cứu

2.4.1. Mẫu thử

Bảng 1: Danh mục các vắc xin sử dụng trong nghiên cứu

TT	Tên vắc xin	Nhà sản xuất	Loạt số	Hạn dùng
1	Adacel	Sanofi Pasteur	Hỗn mẫu *	
2	Jevax	Vabiotech	JM-031116	10/2018
3	Jevax	Vabiotech	JM-081016E	09/2018
4	Pentaxim	Sanofi Pasteur	Hỗn mẫu *	
5	Quinvaxem	Berna	Hỗn mẫu *	
6	Vaxigrip	Sanofi Pasteur	N3F753M	05/2017
7	Vaxigrip	Sanofi Pasteur	N3H822M	06/2017
8	Vaxigrip	Sanofi Pasteur	N3G911V	06/2017

* : Do không đủ số lượng mẫu của cùng một lô, nên chúng tôi tiến hành hỗn các lô khác nhau của cùng một mẫu vào một ống falcon 50 ml, bảo quản 2-8°C và sử dụng cho đề tài.

Mẫu thêm chuẩn: được hỗn giữa dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml và mẫu thử tại bảng 1 theo tỷ lệ 1:1 [2].

2.4.2. Thiết bị và dụng cụ

Đã được hiệu chuẩn theo ISO/IEC 17025 bao gồm: Cân phân tích Mettler Toledo, máy đo quang phổ Jasco, máy lắc IKA, bể ổn nhiệt Prolabo, hốt hóa Esco, máy ly tâm Heraeus và micropipet các loại.

2.4.3. Hóa chất

Hóa chất tinh khiết dùng cho phân tích, bao gồm: Formaldehyde 37%, Ammonium acetate, acetic acid, acetyl acetone.

2.5. Thiết kế nghiên cứu

2.5.1. Xây dựng quy trình thiết lập mẫu kiểm soát

Pha dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml.

Thực hiện xác định hàm lượng formaldehyde có trong dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml, tính toán xử lý số liệu để đưa ra khoảng giá trị chấp thuận của dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml: TB ± 2SD (xem mục 3.1).

Dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml

Mẫu thử: các vắc xin chứa formaldehyde theo bảng sau:

Pha mẫu QC: hỗn dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml và các mẫu thử trong bảng 1 theo tỷ lệ 1:1.

Xác định hàm lượng formaldehyde có trong mẫu thử, dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml và mẫu thử thêm chuẩn theo quy trình sau:

* Dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml: lấy 0,1 ml cho vào ống nghiệm thủy tinh.

* Mẫu thử

Lấy 3 ml mẫu vắc xin cho vào ống ly tâm.

Ly tâm mẫu 4000 vòng/phút trong 10 phút.

Lấy lượng mẫu thích hợp đối với từng mẫu cho vào ống nghiệm thủy tinh.

* Mẫu thêm chuẩn

Lấy 2 ml mẫu thử (sau ly tâm) + 2 ml dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml.

Lấy lượng mẫu thích hợp đối với từng mẫu cho vào ống nghiệm thủy tinh.

Chú ý: Các mẫu lặp lại 2 lần để lấy giá trị trung bình.

* Đường chuẩn:

Cho lần lượt dung dịch formaldehyde chuẩn 2 µg/ml vào các ống nghiệm theo các thể tích sau: 0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 và 2,0 ml.

* Các bước chung tiếp theo:

Thêm nước cất vừa đủ 2 ml các ống nghiệm.

Thêm vào mỗi ống nghiệm 2 ml dung dịch acetylacetone.
Lắc đều và giữ các ống nghiệm trong nồi cách thủy ở 100°C trong 15 phút.
Làm lạnh đến nhiệt độ phòng.
Tiến hành đo quang ở bước sóng λ= 415 nm.
2.5.2. Xác định tiêu chuẩn đánh giá giá trị thử nghiệm thông qua mẫu QC
a/ Xác định giá trị thực của dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml đã pha
Thực hiện quy trình phân tích trên mẫu formaldehyde chuẩn 30 µg/ml 11 lần vào các ngày khác nhau và các nhân viên thực hiện khác nhau theo quy trình mục 2.5.1. Sử dụng phần mềm Excell tính hàm lượng formaldehyde trong dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml và xác định giá trị trung bình của 11 lần thử nghiệm. Loại bỏ các giá trị nằm ngoài khoảng TB ± 2SD [3] nếu có. Giá trị thực của dung dịch formaldehyde chuẩn chính là giá trị trung bình của các lần làm thử nghiệm có giá trị.
b/Xác định tính đúng (hay độ thu hồi của dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml)
Thực hiện quy trình phân tích trên mẫu thử , dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml, và mẫu thêm chuẩn. Tính nồng độ formaldehyde và độ thu hồi của dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml. Độ thu hồi được tính theo công thức sau:
R (µg/ml) = (2xhàm lượng formaldehyde trong mẫu thêm chuẩn – hàm lượng formaldehyde trong mẫu thử)
R (%) = R (µg/ml) x100/giá trị thực của dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml
Tiêu chuẩn chấp thuận của độ thu hồi dự kiến dùng để đánh giá thử nghiệm sau khi đưa mẫu QC vào áp dụng)
Nồng độ formaldehyde của dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml thu hồi được nằm trong khoảng giá trị chấp thuận đã được xác định TB ± 2SD [3].
Hoặc
Độ thu hồi của dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml trong mẫu thử thêm chuẩn nằm trong khoảng 90% ≤ R % ≤ 107% [4].
Hoặc
Độ thu hồi của dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml trong mẫu thử thêm chuẩn nằm trong khoảng 90% ≤ R % ≤ 110%, tức độ lệch so với giá trị trung bình là ± 10%.

3. Kết quả

Với quy trình thiết lập mẫu kiểm soát theo mục 2.5.1, chúng tôi tiến hành xác định tiêu chuẩn dùng để đánh giá giá trị thử nghiệm thông qua mẫu kiểm soát và kết quả được thể hiện trong các mục dưới đây:

3.1. Xác định giá trị thực và khoảng giá trị chấp thuận của dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml (loạt số HC26116, ngày pha: 13/7/2016)

Bảng 2: Tổng hợp kết quả hàm lượng formaldehyde của dung dịch formaldehyde chuẩn

TT	Ngày thực hiện	Nồng độ formaldehyde (µg/ml)
1	14/7/2016	29,97
2	19/7/2016	30,24
3	21/7/2016	29,56
4	27/7/2016	29,43
5	04/8/2016	29,83
6	09/8/2016	29,36
7	19/8/2016	29,07
8	25/8/2016	30,85
9	01/9/2016	29,06
10	07/9/2016	29,56

11	12/9/2016	31,14
Giá trị trung bình của hàm lượng Formaldehyde (TB)		**29,82**
Độ lệch chuẩn (SD)		**0,68**

Từ kết quả trong bảng 2 có:

Giá trị trung bình nồng độ (µg/ml): **29,82**

Khoảng giá trị chấp thuận của nồng độ (µg/ml) theo tiêu chuẩn TB ± 2SD, hay được áp dụng cho phân tích xu hướng các chỉ số hóa học, tương đương độ tin cậy 95%: **28,46 – 31,19.**

Khoảng giá trị chấp thuận của nồng độ (µg/ml) theo độ thu hồi 90 – 107%, tiêu chuẩn AOAC: **26,83 – 31,90**.

Khoảng giá trị chấp thuận của nồng độ (µg/ml) theo độ thu hồi 90 – 110%, tương đương tiêu chuẩn thường hay được áp dụng cho các chỉ số hóa học trong vắc xin và sinh phẩm (hay sai số ± 10%): **26,83 – 32,80**

3.2. Xác định tính đúng (hay độ thu hồi của dung dịch formaldehyde chuẩn)

Tính đúng hay độ thu hồi của dung dịch Formaldehyde chuẩn được xác định thông qua việc phân tích các mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3: Nồng độ formaldehyde có trong các mẫu thử, mẫu thêm chuẩn và dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml. Độ thu hồi của dd formaldehyde 30 µg/ml

TT	Tên mẫu	Nồng độ Formaldehyde (µg/ml)			Độ thu hồi của dd formaldehyde 30 µg/ml	
		Mẫu thử	Mẫu thêm chuẩn	Dd formaldehyde 30 µg/ml	µg/ml	%
1	Adacel	0,75	15,08	29,50	29,41	98,63
2	Adacel	0,73	15,57	29,90	30,41	101,98
3	Adacel	0,78	14,64	28,78	28,50	95,57
4	Petaxim	17,68	23,71	29,50	29,74	99,73
5	Pentaxim	18,12	24,22	29,90	30,32	101,68
6	Pentaxim	18,98	23,09	28,78	**27,20**	91,21
7	Quinvaxem	1,39	15,29	29,50	29,19	97,89
8	Quinvaxem	1,44	16,55	29,90	**31,66**	106,17
9	Quinvaxem	1,47	14,75	28,78	**28,03**	94,00
10	Vaxigrip	27,60	30,10	30,95	**32,60**	109,32
11	Vaxigrip	27,75	29,78	30,95	**31,81**	106,67
12	Vaxigrip	27,29	29,63	30,95	**31,97**	107,21
13	Vaxigrip	26,82	28,83	28,91	30,84	103,62
14	Jevax	0	14,52	30,47	29,04	97,38
15	Jevax	0	13,49	28,91	**26,98**	90,48

Theo bảng 3 cho thấy:

Có 7/15 lần thử nghiệm có giá trị độ thu hồi của dung dịch formaldehyde nằm ngoài khoảng giá trị **28,46 – 31,19 µg/ml** (tức nằm ngoài khoảng giá trị TB ± 2SD được tính theo mục 3.1)

Có 2/15 lần thử nghiệm có giá trị độ thu hồi của dung dịch formaldehyde nằm ngoài khoảng giá trị 90 – 107% (theo tiêu chuẩn của AOAC)

Toàn bộ 15 lần thử nghiệm giá trị hàm lượng formaldehyde trong dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml đều nằm trong khoảng TB ± 2SD (**28,46 – 31,19 µg/ml)** và nằm trong khoảng TB ± 10% **(26,83 – 32,80 µg/ml).**

4. Bàn luận

Đối với dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml loạt số HC26116 toàn bộ 11 lần thử nghiệm kết quả hàm lượng đều nằm trong khoảng TB ± 2SD, giá trị trung bình là **29,82 µg/ml**, khoảng giá trị nồng độ chấp thuận là: **28,46 – 31,19 µg/ml,** các kết quả thu được đều có giá trị.

Mẫu kiểm soát (QC) dùng trong thử nghiệm xác định hàm lượng formaldehyde có thể dùng dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml hoặc dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml thêm và mẫu thử theo tỷ lệ 1:1. Việc lựa chọn đặc tính và giá trị chấp thuận của mẫu QC tùy thuộc vào đặc thù của từng phòng thử nghiệm.

Tại khoa Hóa lý, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế chúng tôi lựa chọn dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml với giá trị chấp thuận TB ± 10% làm mẫu QC trong thử nghiệm xác định hàm lượng formaldehyde trong vắc xin do đặc tính của phòng thử nghiệm làm nhiều mẫu, nhiều chất nền cùng lúc

5. Kết luận

Qua thiết lập nghiên cứu chúng tôi đã xây dựng được quy trình thiết lập mẫu kiểm soát dùng cho thử nghiệm xác định hàm lượng formaldehyde trong vắc xin như sau: Pha dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml, xác định giá trị nồng độ chấp thuận (TB±10%) của dung dịch formaldehyde chuẩn trên thông qua các kết quả thực nghiệm. Mẫu kiểm soát (mẫu QC) là dung dịch formaldehyde chuẩn 30 µg/ml.

References

[1] ISO/IEC 17025:2005: Yêu cầu chung về năng lực của phòng thử nghiệm và hiệu chuẩn.

[2] Trần Cao Sơn. Thẩm định phương pháp trong phân tích hóa học và vi sinh. Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật Hà Nội.

[3] Tạ Thị Thảo, 2006. Thống kê trong Hóa phân tích. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội.

[4] AOAC Peer-Verified Methods Program, Manual on Policies and Procedures (1998), AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD.