

**EVALUATION THE SUITABILITY OF BHK-21 CELL (ATCC)
ESTABLISHED AT NATIONAL INSTITUTE FOR CONTROL OF
VACCINES AND BIOLOGICALS IN JAPANESES ENCEPHALITIS
POTENCY TEST**

**Nguyen Viet Anh*, Do Thi Hong Anh, Nguyen Thi Ha, Tran Thi Phuong, Trieu Thanh Hai,
Hoang Trung Hung, Phung Hai Linh, Nguyen Thi Ly**

National Institute for Control of Vaccines and Biologicals

Received 10 March 2026

Accepted 31 March 2026

Abstract: BHK-21 cell is isolated from Syria hamster that has been used widely in many fields such as research, manufacture and quality control of vaccines and biological products. In National Institute for Control of Vaccines and Biologicals (NICVB), the Japanese originated BHK-21 cell bank has been applied in potency test to evaluate the quality of inactivated Japanese encephalitis (JE) vaccine Jevax, however, the amount of the cell is about 10 vials. Therefore, it is necessary to establish, store and appraise the suitability of BHK-21 cell line from ATCC (American Type Culture Collection) code CCL-10 in JE vaccine potency test with a purpose of replacing the old BHK-21 cell line. By Plaque Reduction Neutralization Test (PRNT₅₀) method, the results showed that BHK-21 cell (ATCC) was sensitive with JE virus and can be applied in JE potency test after optimized procedure such as changing the cultivation time, observation result after 3 days of infection and changing of challenging virus concentration. The value of potency for samples was in the range of 1,53 to 1,62 log PRNT₅₀. The coefficient of variations (CV) between samples and reference standard of both 2 cell lines were from 1,01 to 1,04 and had no significant difference. Therefore, BHK-21 (ATCC) cell was suitable and can be applied in potency test of Japanese encephalitis vaccine.

Key words: *BHK-21 cell line, potency test, Japanese encephalitis vaccine*

* Corresponding author:

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

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v6i1.249>

ĐÁNH GIÁ SỰ PHÙ HỢP DÒNG TẾ BÀO BHK-21 (ATCC) THIẾT LẬP TẠI VIỆN KIỂM ĐỊNH QUỐC GIA VẮC XIN VÀ SINH PHẨM Y TẾ TRONG THỬ NGHIỆM CÔNG HIỆU VẮC XIN VIÊM NÃO NHẬT BẢN JEVAX

Nguyễn Việt Anh*, Đỗ Thị Hồng Ánh, Nguyễn Thị Hà, Trần Thị Phương, Triệu Thanh Hải,
Hoàng Trung Hưng, Phùng Hải Linh, Nguyễn Thị Lý

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

Nhận ngày 10 tháng 03 năm 2026

Chấp nhận đăng ngày 31 tháng 03 năm 2026

Tóm tắt: BHK-21 là tế bào phân lập từ chuột Hamster Syria được dùng rộng rãi trong lĩnh vực nghiên cứu, sản xuất, kiểm định vắc xin và sinh phẩm y tế. Tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB), tế bào BHK-21 nguồn gốc Nhật Bản đã và đang được sử dụng vào thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản (VNNB) bất hoạt Jevax, tuy nhiên, số lượng tế bào tại khoa Môi trường còn 10 ống. Vì vậy, dòng tế bào BHK-21 (ATCC) mã CCL-10 được thiết lập, lưu trữ và đánh giá tính phù hợp trong thử nghiệm công hiệu vắc xin VNNB với mục tiêu thay thế tế bào BHK-21 cũ. Bằng phương pháp trung hòa kháng thể giảm 50% đám hoại tử (PRTN₅₀), kết quả cho thấy, tế bào BHK-21 (ATCC) nhạy cảm với vi rút VNNB, phù hợp với thử nghiệm này sau khi tối ưu quy trình như thay đổi thời gian nuôi cấy, đọc kết quả sau 3 ngày gây nhiễm và chuẩn độ chủng vi rút thử thách. Giá trị công hiệu mẫu thử dao động từ 1,53 đến 1,62 log PRNT₅₀. Hệ số tương quan (CV) giữa giá trị công hiệu mẫu thử và mẫu chuẩn trên hai dòng tế bào nằm trong khoảng 1,01 đến 1,04 và không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê. Từ đó, tế bào BHK-21 (ATCC) phù hợp và có thể áp dụng trong thử nghiệm công hiệu vắc xin VNNB.

Từ khóa: tế bào BHK-21, thử nghiệm công hiệu, vắc xin viêm não Nhật Bản

1. Đặt vấn đề

Tế bào thận chuột hamster hay Baby Hamster Kidney (BHK-21) được thiết lập từ năm 1961 do hai nhà khoa học Stoker và Macpherson ở Hội đồng nghiên cứu y khoa (Medical Research Council- MRC), Vương Quốc Anh [3]. Tế bào được phân lập từ thận chuột hamster Syria 5 ngày tuổi, sau đó tiếp tục được nhân lên liên tục trong môi trường *invitro*. Đây là dòng tế bào có hình thái giống tế bào sợi (fibroblast-like), có khả năng bám dính, sinh trưởng và tạo thành một lớp đơn

trên bề mặt phiến tế bào sau đó thích nghi và sinh trưởng trong môi trường nuôi cấy huyền phù. Chính vì vậy, tế bào BHK-21 có thể phát triển mà không cần bám vào bề mặt cố định, thích hợp với việc nghiên cứu và sản xuất quy mô lớn nhiều loại vắc xin cho thú y (vắc xin lở mồm long móng) hay vắc xin cho người (như vắc xin cho vi rút dại, chân tay miệng, rubella hay vi rút viêm não Nhật Bản) và kiểm định chất lượng vắc xin trước khi cung cấp ra thị trường [3-5].

Để thực hiện thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản bất hoạt Jevax (Vabiotech), dòng tế bào BHK-21 được sử dụng như một nguyên liệu để gây nhiễm với hỗn dịch chủng thử thách vi rút viêm não Nhật Bản và kháng huyết thanh lấy từ chuột được tiêm miễn dịch [6,7, 9]. Hiện tại, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế có hai dòng tế bào BHK-21, một dòng tế bào nguồn gốc từ Nhật Bản do công ty Vabiotech cung cấp đã và đang được sử dụng trong thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax, và một dòng tế bào có nguồn gốc từ ngân hàng tế bào quốc tế (American Typed Culture Collection- ATCC) mã CCL-10 mới được nhân lên và cất giữ tại Khoa Môi trường thực nghiệm từ năm 2018 [5]. Tuy nhiên, chưa có đề tài nào kiểm tra, đánh giá kết quả thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax trên dòng tế bào từ ATCC tại NICVB. Do đó, chúng tôi thực hiện đánh giá tính phù hợp tế bào BHK-21 (ATCC) trong thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax với hai mục tiêu bao gồm (1) Đánh giá các đặc điểm về hình thái, sinh trưởng và khả năng tương thích của tế bào BHK-21 (ATCC) trong thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax và (2) Đánh giá tính phù hợp tế bào BHK-21 (ATCC) thiết lập tại NICVB trong thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: Tế bào BHK-21 mã CCL-10 (ATCC) được thiết lập tại NICVB
- Đối tượng đối chứng: Tế bào BHK-21 có nguồn gốc Nhật Bản được cung cấp từ công ty TNHH MTV Vắc xin và Sinh phẩm số 1 (Vabiotech).

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: 03/2025 đến 12/2025
- Địa điểm: Phòng thí nghiệm khoa Kiểm định Vắc xin Vi rút- Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế.

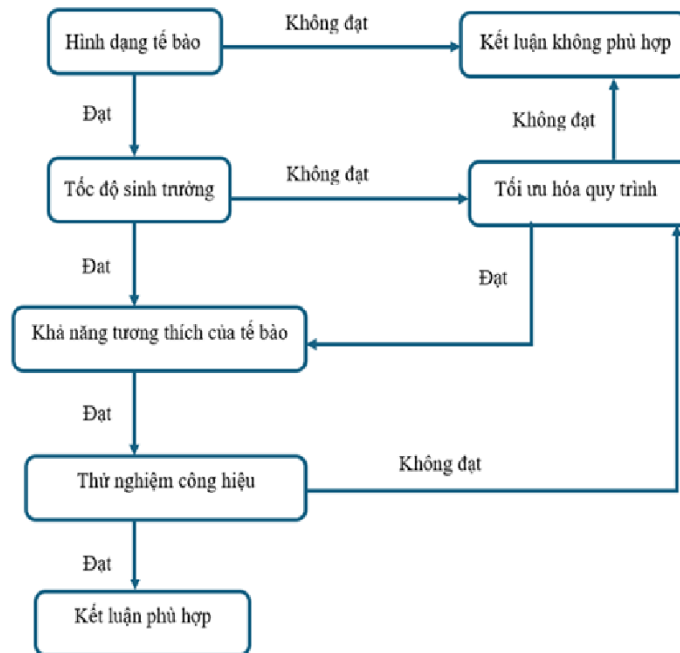
2.3. Vật liệu, hóa chất

- Mẫu chuẩn: Mẫu chuẩn quốc gia viêm não Nhật Bản chủng *Nakayama* (MCQG/01) được bảo quản ở nhiệt độ -70°C tại Khoa Mẫu chuẩn, NICVB.

- Mẫu vắc xin: vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax
- Hóa chất: Crystal violet (Merck), chủng vi rút viêm não Nhật Bản *Nakayama* (Vabiotech), Ethanol (Merck), Formalin 37% (Merck), Gelatin (Merck), HI FBS (Gibco), huyết thanh chứng dương viêm não Nhật Bản (NICVB), L- Glutamine (Gibco), MEM (Gibco), Methyl cellulose (Wako), nước cất 2 lần (NICVB), Pen-strep (Gibco), Presept (ASP), Sodium Bicarbonate 7,5% (Gibco), Sodium chloride (Merck), Trypsin EDTA 0,25% (Gibco)
- Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng ICR khoảng 4 tuần tuổi, khỏe mạnh và cùng giới tính đối với từng nhóm chuột (nhóm tiêm vắc xin mẫu chuẩn, nhóm tiêm vắc xin mẫu thử và nhóm chứng không tiêm)
- Vật tư tiêu hao: Bông miếng cắt nhỏ (Việt Nam), bơm tiêm 1 ml (Việt Nam), bơm tiêm 3 ml (Việt Nam), chai thủy tinh 1000ml (Schott Duran), đầu côn 200 μ l, 1000 μ l (Biologix), hộp xốp đựng đá lạnh (Việt Nam), kéo (Việt Nam), khăn lau không sinh bụi (Việt Nam), khay đựng tuýp 1,5ml, 15ml, 50 ml (Việt Nam), panh (Việt Nam), phiến 6 giếng (Corning), pi pét nhựa vô trùng các loại (Corning), tuýp 1,5ml (Eppendorf), tuýp 5ml (Corning), tuýp 15 ml (Corning), tuýp 50ml (Corning).
- Trang thiết bị: Bể ổn nhiệt (CHCL-Lab), kính hiển vi phản pha (Olympus), máy làm đá (Evermed), máy lắc tuýp (IKA), máy ly tâm lạnh (Marathol), máy ly tâm thường (Eppendorf), pipet aid (USA), Pipet man các loại (Eppendorf), tủ an toàn sinh học (Nuare), tủ -20°C (Sanyo), tủ ấm CO₂ (Sanyo), tủ lạnh thường (PHCBI)

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Đây là nghiên cứu mô tả thực nghiệm, được tiến hành theo hai mục tiêu theo sơ đồ sau:



Hình 1. Thiết kế nghiên cứu của đề tài

- Mục tiêu 1: Đánh giá các đặc điểm về hình thái, sinh trưởng và khả năng tương thích của tế bào BHK-21 (ATCC) trong thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax.

+ Về hình thái: So sánh hình dạng tế bào BHK-21 từ ATCC và Vabiotech dưới kính hiển vi 4X (dạng hình dài, dẹt hay tròn, xếp sát nhau hay có tách rời)

+ Về sinh trưởng: So sánh tốc độ sinh trưởng, thời gian để mật độ bao phủ trên giếng đạt 100% giữa hai dòng tế bào BHK-21 khi có cùng nồng độ tế bào cho vào ban đầu.

+ Về khả năng tương thích của tế bào với thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax: Đánh giá các tiêu chí như số lượng đám hoại tử (plaque) của các giếng chủng vi rút CV, khả năng bám nhuộm khi nhuộm và cố định tế bào bằng dung dịch crystal violet chứa formaldehyde và khả năng vi rút hủy hoại trên tế bào sau khi gây nhiễm.

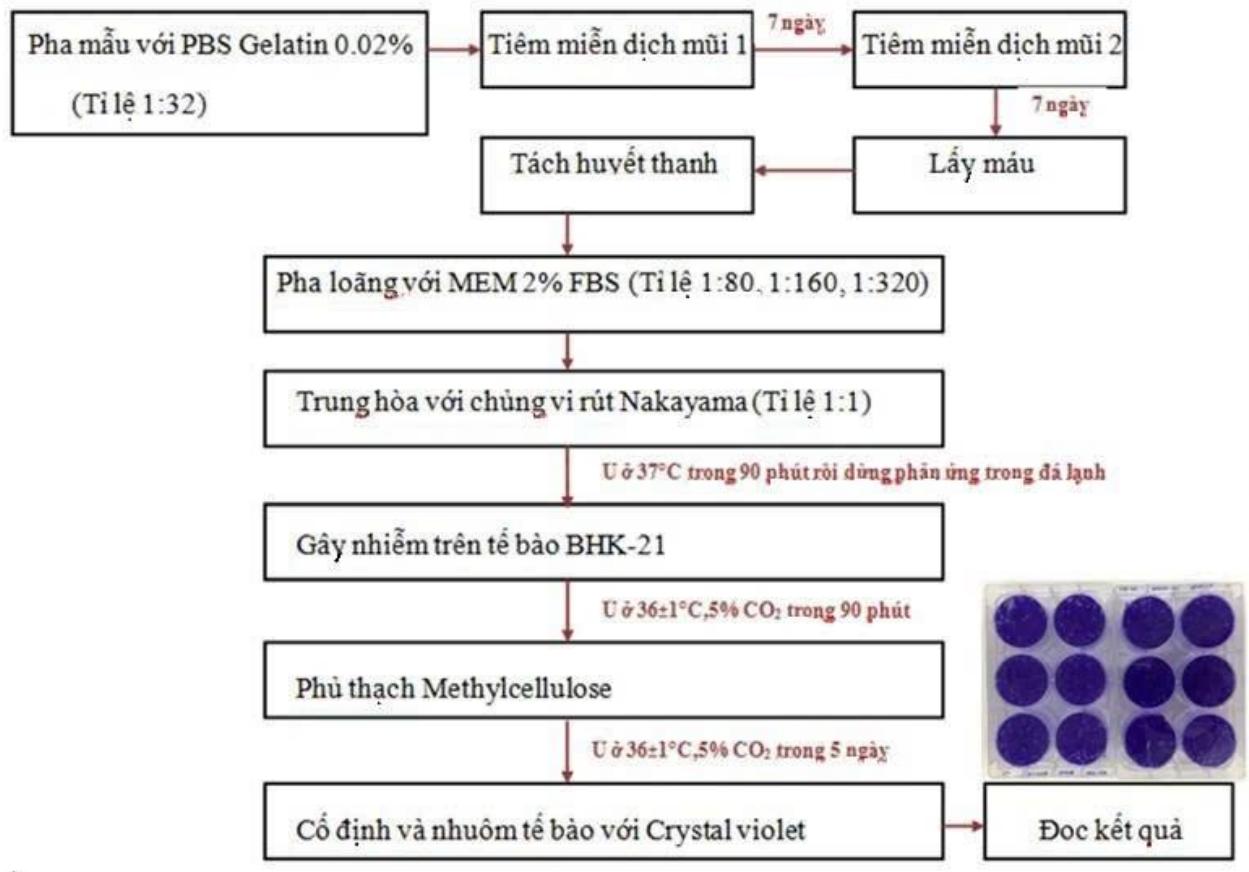
- Mục tiêu 2: Đánh giá tính phù hợp tế bào BHK-21 (ATCC) trong thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax.

Thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax được tiến hành vào 6 ngày khác nhau với cùng trang thiết bị và cùng nhóm thực hiện. Kết quả sau từng lần thực hiện có giá trị khi tế bào trong các giếng không có dấu hiệu nhiễm khuẩn hay nấm mốc, đám hoại tử (plaque) rõ ràng, số lượng plaque trung bình của giếng CV nằm trong khoảng 50-150, giá trị công hiệu huyết thanh chứng dương $\geq 1,50$, huyết thanh chứng âm $< 1,00$.

Giá trị công hiệu của vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax so với giá trị công hiệu mẫu chuẩn

quốc gia viêm não Nhật Bản được bảo quản ở -70°C phải ≥ 1 được coi là đạt yêu cầu.

Dựa vào kết quả, so sánh giá trị công hiệu của vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax và mẫu chuẩn trên hai dòng tế bào BHK-21, đánh giá tính phù hợp của tế bào BHK-21 (ATCC) trong thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax.



Hình 2. Sơ đồ thực hiện thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản

Phần mềm excel được sử dụng để tính toán kết quả của đề tài dựa theo phương trình tính giá trị công hiệu của vắc xin viêm não Nhật Bản bất hoạt, từ đó, so sánh kết quả công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản thực hiện trên hai dòng tế bào BHK-21 có nguồn gốc từ ATCC và Vabiotech.

Công thức tính hiệu giá kháng thể trung hoà [6][7]

* Tỉ lệ giảm đám hoại tử được tính theo công thức:

$$Y = \left(1 - \frac{S}{CV}\right) \times 100$$

Trong đó:

S: số plaque trung bình của mỗi nồng độ huyết thanh pha

CV: số plaque trung bình của CV/giếng

* Hiệu giá kháng thể trung hoà được tính theo công thức:

$$Z = \frac{Y - 50}{47,762} + \log_{10} x$$

Trong đó:

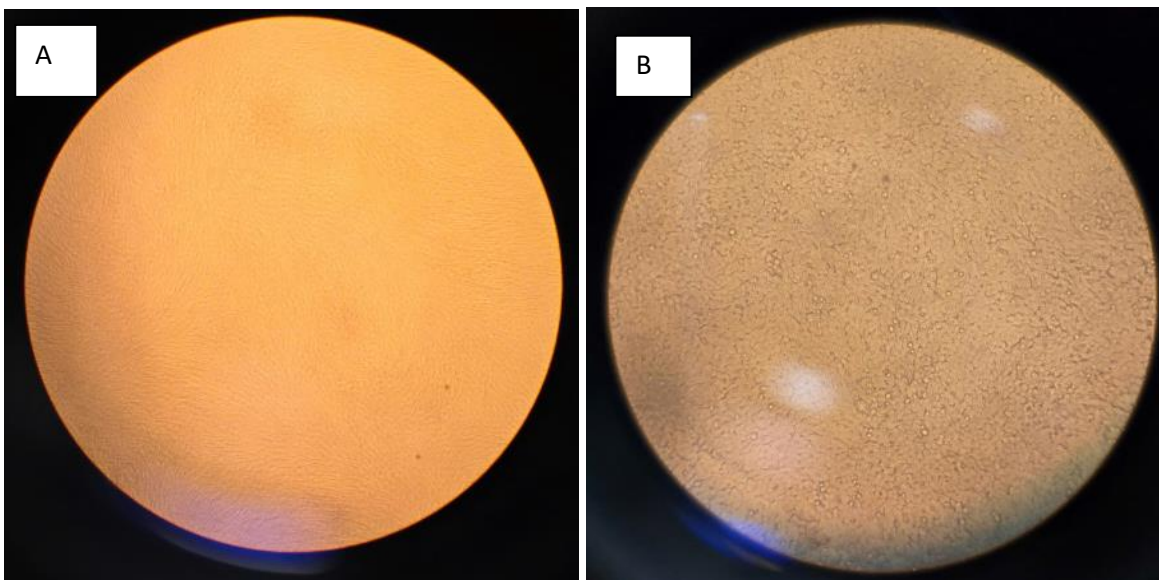
Z: logarit hiệu giá kháng thể trung hoà giảm 50% đảm hoại tử

Y: tỉ lệ giảm đảm hoại tử của thử nghiệm.

x: số nghịch đảo của độ pha loãng

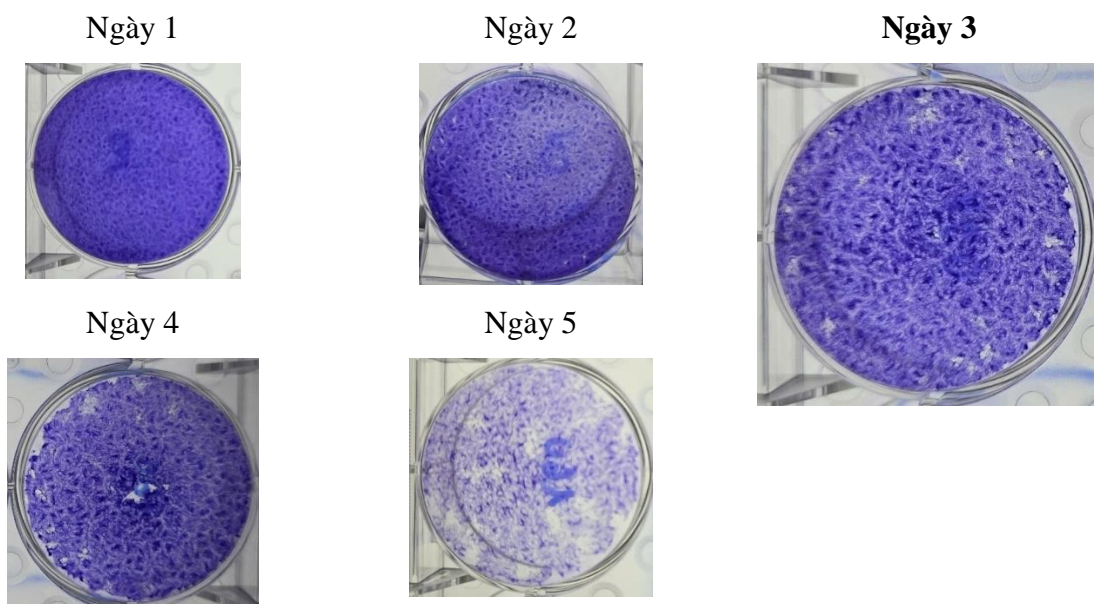
3. Kết quả

Đặc điểm hình thái và tốc độ sinh trưởng của hai dòng tế bào được quan sát dưới kính hiển vi. Tế bào BHK-21 (ATCC) có hình dạng dài và dẹt xếp sát cạnh nhau, trong khi đó, tế bào BHK-21 (Vabiotech) có hình dạng tròn hơn và xếp sát nhau, đều đúng với hình dạng của tế bào giống với tế bào nguyên bào dạng sợi. Ở cùng một nồng độ ban đầu (2×10^5 tế bào/ml), sau 48 giờ, phần tế bào BHK-21 (ATCC) có độ che phủ khoảng 90-95% trong khi tế bào BHK-21 (Vabiotech) mọc kín 100% bề mặt giếng chứng tỏ tốc độ tăng trưởng của tế bào BHK-21 (ATCC) chậm hơn so với tế bào BHK-21 (Vabiotech). Vì vậy, để đảm bảo tế bào BHK-21 (ATCC) có độ phủ 100% trên bề mặt giếng, tế bào BHK-21 (ATCC) được thực hiện trước khoảng 6-8 tiếng so với tế bào BHK-21 (Vabiotech) để đảm bảo rằng 2 dòng tế bào có mật độ tương đương nhau trước khi đưa vào thử nghiệm.



Hình 3. Tế bào BHK-21 (ATCC) và BHK-21 (Vabiotech) dưới kính hiển vi 4X

Về khả năng tương thích của tế bào BHK-21 (ATCC) đối với thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax, sau khi nhuộm bằng crystal violet trên tế bào BHK-21 (ATCC) tại ngày thứ 5 tính từ ngày gây nhiễm, các plaque to, mọc chồng chéo lên nhau, màu nền tím của thuốc nhuộm nhạt, không đồng nhất dẫn đến khó khăn cho việc đọc kết quả. Vì vậy, để khắc phục điều này, nhóm nghiên cứu tiến hành đọc kết quả ở ngày thứ 1, thứ 2, thứ 3, thứ 4 và thứ 5 để lựa chọn ngày đọc kết quả phù hợp cho thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax trên dòng tế bào BHK-21 (ATCC). Kết quả cho thấy sau 3 lần lặp lại, tại ngày thứ 3, số lượng và hình dạng của plaque có thể nhìn thấy và đếm dễ dàng, số lượng plaque không tăng lên mà chỉ có kích thước to lên ở các ngày sau đó gây chồng chéo và khó khăn trong việc đọc kết quả.



Hình 4. Kết quả thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax trên tế bào BHK-21 (ATCC) sau khi nhuộm vào ngày 1, 2, 3, 4 và 5

Trước khi thực hiện thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản, việc chuẩn độ lại vi rút trên tế bào BHK-21 (ATCC) được thực hiện để đảm bảo số lượng plaque đếm được nằm trong khoảng tiêu chuẩn của nhà sản xuất sau đó thực hiện thử nghiệm 06 lần vào 06 ngày khác nhau trên tế bào BHK-21 (ATCC) với nồng độ chủng vi rút mới.

Để đánh giá tính phù hợp của tế bào BHK-21 (ATCC) trong thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax, hiệu giá trung bình của huyết thanh chứng dương và huyết thanh chứng âm của thử nghiệm qua mỗi lần thực hiện được thể hiện trong bảng 1. Đối chiếu với tiêu chuẩn chấp thuận của thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản, giá trị công hiệu huyết thanh chứng dương $\geq 1,50$, huyết thanh chứng âm $< 1,00$, qua 6 lần thực hiện, các giá trị công hiệu huyết

thanh chứng dương và chứng âm trên dòng tế bào có nguồn gốc từ ATCC đều đạt yêu cầu với giá trị trung bình của huyết thanh chứng âm và chứng dương lần lượt là 0,45 và 1,67.

Bảng 1. Giá trị trung bình huyết thanh chứng dương và chứng âm trên tế bào BHK-21 (ATCC)

Lần thực hiện	Huyết thanh chứng âm (log PRNT ₅₀)	Huyết thanh chứng dương (log PRNT ₅₀)
1	0,52	1,61
2	0,57	1,60
3	0,41	1,75
4	0,61	1,80
5	0,37	1,62
6	0,32	1,63
GM	0,45	1,67
SD	0,11	0,08

Trong đó: GM (Geomean): Trung bình nhân

SD (Standard Deviation): Độ lệch chuẩn

Đánh giá trên tiêu chuẩn số lượng plaque các giếng CV đếm được trên dòng tế bào BHK-21 (ATCC), kết quả tổng hợp cho thấy số lượng plaque trung bình của các giếng chủng CV ở dòng tế bào BHK-21 (ATCC) đạt yêu cầu và đều nằm trong khoảng cho phép (50-150) với giá trị trung bình là 60,01.

Bảng 2. Số lượng plaque ở các giếng chủng vi rút trên tế bào BHK-21 (ATCC)

Lần thực hiện	Tế bào BHK-21 (ATCC)					Trung bình
1	56	63	60	55	58	60,89
	61	63	65	62	67	
2	51	61	60	59	58	60,11
	59	61	65	58	71	

3	57	56	72	56	70	60,29
	52	55	63	62	63	
4	64	60	58	61	67	61,02
	64	70	57	56	55	
5	55	61	53	60	58	58,84
	65	54	67	57	60	
6	60	53	56	62	58	58,93
	55	68	65	55	59	
GM						60,01

Trong đó: GM (Geomean): Trung bình nhân

Kết quả giá trị công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản tính toán theo phần mềm excel từng lần thực hiện đối với mẫu chuẩn và mẫu thử được thể hiện ở bảng sau:

Bảng 3. Giá trị công hiệu vắc xin mẫu chuẩn quốc gia viêm não Nhật Bản và vắc xin Jevax

Lần thực hiện	Hiệu giá (log PRNT ₅₀)					
	BHK-21 (Vabiotech)			BHK-21 (ATCC)		
	Mẫu chuẩn	Mẫu thử	Hệ số tương quan	Mẫu chuẩn	Mẫu thử	Hệ số tương quan
1	1,61	1,67	1,04	1,57	1,61	1,03
2	1,60	1,63	1,02	1,58	1,59	1,01
		1,61	1,01		1,59	1,01
3	1,59	1,62	1,02	1,52	1,54	1,01
		1,61	1,01		1,53	1,01
4	1,59	1,61	1,01	1,59	1,62	1,02
		1,60	1,01		1,62	1,02
		1,61	1,02		1,60	1,01
5	1,60	1,62	1,02	1,57	1,59	1,01
6	1,60	1,63	1,02	1,54	1,56	1,01
GM	1,60	1,62	/	1,56	1,58	/
SD	0,01	0,02		0,02	0,03	
CV	0,43	1,15		1,54	1,90	

Trong đó: GM (Geomean): Trung bình nhân

SD (Standard Deviation): Độ lệch chuẩn

CV (Coefficient of Variation): Hệ số biến thiên

Từ bảng 4, tất cả các lần thực hiện với vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax đều đạt yêu cầu trên cả hai dòng tế bào BHK-21 với giá trị công hiệu dao động từ 1,59 đến 1,61 đối với tế bào BHK-21 (Vabiotech) và từ 1,52 đến 1,59 trên tế bào BHK-21 (ATCC). Kết quả giá trị công hiệu trung bình là 1,62 trên tế bào BHK-21 (Vabiotech) và 1,58 trên tế bào BHK-21 (ATCC) với hệ số biến thiên % CV nhỏ, lần lượt là 1,15 và 1,90.

Khi so sánh hệ số tương quan của giá trị công hiệu mẫu thử và mẫu chuẩn của từng lần thực hiện trên hai dòng tế bào BHK-21, kết quả cho thấy hệ số tương quan trên tế bào BHK-21 (Vabiotech) dao động trong khoảng 1,01 đến 1,04 và trên tế bào BHK-21 (ATCC) dao động khoảng 1,01 đến 1,03. Khi so sánh giá trị này bằng hàm t-Test đối với hai mẫu có phương sai không bằng nhau tại độ tin cậy $\alpha = 0,05$, giá trị $P = 0,288 (>0,05)$ chứng tỏ hệ số tương quan giữa mẫu thử và mẫu chuẩn trên tế bào BHK-21 (ATCC) và BHK-21 (Vabiotech) tương đương nhau và không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê.

4. Bàn luận

Phương pháp hiệu giá kháng thể trung hòa giảm 50% đám hoại tử (PRNT₅₀) được sử dụng trong thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản bất hoạt là một phương pháp tiêu chuẩn, được Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) cũng như Dược điển châu Âu, Dược điển Việt Nam khuyến cáo, vì vậy, tính tương đồng và độ tin cậy của đề tài được đảm bảo.

Khi so sánh về một số đặc điểm giữa hai dòng tế bào BHK-21, về mặt hình thái, dưới kính hiển vi quang học, tế bào BHK-21 (ATCC) có hình dạng dài và dẹt, giống tế bào nguyên bào dạng sợi, xếp sát nhau, phân bố đồng đều và có xu hướng tạo thành lớp đơn đồng nhất. Về tốc độ tăng trưởng, với cùng một nồng độ ban đầu là 2×10^5 tế bào/ml, sau khi cấy chuyển vào phiến và ủ ở $36 \pm 1^\circ\text{C}$, 5% CO₂ trong 48 giờ, tế bào BHK-21 (Vabiotech) mọc kín một lớp trên mặt đáy giếng tế bào, độ che phủ 100%, trong khi đó, tế bào BHK-21 (ATCC) có độ che phủ khoảng 90-95% bề mặt giếng, chứng tỏ rằng tốc độ sinh trưởng của BHK-21 (ATCC) chậm hơn so với tế bào BHK-21 (Vabiotech). Nguyên nhân dẫn đến sự khác nhau này có thể vì nguồn gốc tế bào khác nhau, môi trường cất giữ và nuôi cấy khác nhau, số lần cấy chuyển khác nhau dẫn đến sự khác biệt về trạng thái sinh lý, đặc tính sinh trưởng cũng như mức độ ổn định của tế bào. Cũng chính vì vậy, sau khi

cố định và rửa nhuộm với dung dịch Crystal violet, màu tím trên các phiến tế bào BHK-21 (ATCC) nhạt và thiếu sự đồng nhất, hình dạng plaque to, có xu hướng sát nhau hoặc chồng chéo lên nhau.

Ngoài ra, chủng vi rút viêm não Nhật Bản (CV) khi gây nhiễm với tế bào BHK-21 (ATCC) cũng được chuẩn độ để phù hợp với dòng tế bào mới này sao cho số lượng plaque trên giếng tế bào nằm trong khoảng 50-150, sau đó, thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax được thực hiện 6 lần vào 6 ngày khác nhau. Kết quả sau 3 ngày gây nhiễm cho thấy tế bào trong các giếng không có dấu hiệu nhiễm khuẩn hay nấm mốc, đám hoại tử trên phiến rõ, số lượng trung bình của các giếng CV nằm trong khoảng 50-150, giá trị công hiệu huyết thanh chứng dương $\geq 1,5$ và huyết thanh chứng âm < 1 , đều đạt các tiêu chí đánh giá thử nghiệm có giá trị. Tiêu chuẩn của thử nghiệm cũng đạt yêu cầu trên tế bào BHK-21 (ATCC) với hệ số tương quan giữa mẫu thử và mẫu chuẩn đều ≥ 1 trong cả 6 lần thực hiện chứng tỏ tế bào BHK-21 (ATCC) có nhạy cảm với chủng vi rút viêm não Nhật Bản *Nakayama* và tế bào này có thể ứng dụng vào thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản Jevax.

5. Kết luận

Tế bào BHK-21 (ATCC) nhạy cảm với vi rút viêm não Nhật Bản chủng *Nakayama* và có thể áp dụng vào thử nghiệm công hiệu vắc xin viêm não Nhật Bản bất hoạt Jevax sau khi cải tiến quy trình như tăng thời gian nuôi cấy để đảm bảo độ bao phủ của tế bào 100% bề mặt giếng, đọc kết quả sau 3 ngày gây nhiễm tế bào, và chuẩn độ nồng độ chủng vi rút gây nhiễm.

Tài liệu tham khảo

[1] Yun SI, Lee YM. Japanese encephalitis: The virus and vaccines. *Hum Vaccin Immunother.* 2014; 10 (2): 263-79.

[2] Phan Thị Ngà. *Dịch tễ học phân tử vi rút viêm não Nhật Bản*. Hà Nội: NXB Y học Hà Nội; 2014.

[3] Stoker M, Macpherson I Syrian Hamster Fibroblast cell line BHK-21 and its derivatives. *Nature.* 1964; 203(4962): 1355-1357

[4] Hernandez R, Brown DT. Growth and maintenance of Baby Hamster Kidney (BHK) cells. *Current Protocols in Microbiology.* 2010; Appendix 4H.1-A.4H.7

[5] Fivevet. Ứng dụng tế bào Marc-145, BHK-21 và Vero trong sản xuất vắc xin thú y [Internet]. 2025. [Accessed: 10/10/2025]. Đường dẫn:

<https://www.fivevet.vn/consultants/2025/09/ung-dung-te-bao-marc-145-bhk-21-va-vero-trong-san-xuat-vac-xin-thu-y>

[6] ATCC. BHK-21 (C-13). Cell products, animal cells. [Accessed: 28/02/2025]. Đường dẫn: <http://www.atcc.org/products/ccl-10>.

[7] Bộ Y tế. *Dược điển Việt Nam V*. Hà Nội: NXB Y học; 2017. Viêm não Nhật Bản; tr. 1058-1059.

[8] World Health Organization. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of Japanese encephalitis vaccine (inactivated). *WHO Tech Rep Ser*. 2011;963.

[9] LabCE. Plaque Reduction Neutralization Tests (PRNT) [Internet]. 2016.[Accessed: 28/02/2025].

Đường dẫn: http://www.labce.com/spg1050613_plaque_reduction_neutralization_tests_prnt.aspx.

[10] NICVB. SOP-VR03-01: Quy trình chuẩn thử nghiệm công hiệu nhận dạng vắc xin viêm não Nhật Bản bất hoạt.

[11] Sood S, Bhardwaj A, Tandon S. Comparative study of Japanese encephalitis, live attenuated vaccine potency by CCID50 and PFU method. *Int J Sci Res*. 2020;9 (4).

[12] Singh S, Sharma M, Kumar S, Gowal D. Standardization of serum neutralization assay of Japanese encephalitis virus (Nakayama NIH strain) on BHK-21 (CL-13) cell line. *Acta virol*. 2015;59(3): 234-239.