

# VALIDATION OF SAR (IVACRIG) STERILITY TESTING PROCESS BY MEMBRANE FILTRATION METHOD

Nguyen Khanh Ly\*, Nguyen Thi Van Quynh, Le Thi Kim Thuy, Nguyen Thu Quynh

*National Institute for Control of Vaccine and Biologicals*

*Received 03 December 2025*

*Accepted 31 March 2026*

**Abstract:** Purified anti-rabies serum (IVACRIG) is a product of the Institute of Vaccines and Medical Biological Products (IVAC), indicated for both adults and children in cases of bites, scratches, or licks on broken skin by animals suspected of being rabid. It helps to prevent infection locally while waiting for the vaccine to produce antibodies after 7-10 days [1]. In this study, we used 60 vials of IVACRIG(3 series) along with standard microorganisms to evaluate the suitability of the membrane filtration method for sterility testing through the growth of microorganisms in the culture. The study results showed that the sterility test of the 3 series IVACRIG met the evaluation criteria: there was a clear growth of bacteria and fungi after inoculation with challenge microorganisms in the culture. Therefore, the validation test met the requirements, the sterility test procedure by membrane filtration method for purified anti-rabies serum (IVACRIG) produced at IVAC is suitable for implementation in practice.

**Keywords:** *IVACRIG, anti-rabies serum, sterility testing, validation*

---

\* Corresponding author:

*E-mail address:* [khanhlynicvb@gmail.com](mailto:khanhlynicvb@gmail.com)

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v6i1.250>

# THẨM ĐỊNH QUY TRÌNH KIỂM TRA VÔ TRÙNG HUYẾT THANH KHÁNG ĐẠI TINH CHẾ (IVACRIG) BẰNG PHƯƠNG PHÁP MÀNG LỌC

Nguyễn Khánh Ly\*, Nguyễn Thị Vân Quỳnh, Lê Thị Kim Thủy, Nguyễn Thu Quỳnh  
Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế

Nhận ngày 03 tháng 12 năm 2025

Chấp nhận đăng ngày 31 tháng 03 năm 2026

**Tóm tắt:** Huyết thanh kháng đại tinh chế (IVACRIG) là sản phẩm thuộc Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế (IVAC), được chỉ định cho cả người lớn và trẻ em trong các trường hợp bị súc vật nghi bị đại cắn, cào rách qua da, liếm trên vùng da bị trầy xước, giúp ngăn chặn tại chỗ trong giai đoạn chờ vaccin tạo kháng thể sau 7-10 ngày [1]. Chúng tôi sử dụng 60 lọ IVACRIG (3 loạt) cùng vi sinh vật chuẩn để đánh giá sự phù hợp của quy trình kiểm tra vô trùng huyết thanh bằng phương pháp màng lọc thông qua sự phát triển của vi sinh vật trong các cốc môi trường. Kết quả nghiên cứu cho thấy thử nghiệm kiểm tra vô trùng 03 loạt IVACRIG đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn đánh giá: có sự phát triển rõ rệt của vi khuẩn và nấm sau khi cấy vi sinh vật thử thách trong các cốc môi trường. Do đó, thử nghiệm thẩm định đạt yêu cầu, quy trình kiểm tra vô trùng bằng phương pháp màng lọc đối với Huyết thanh kháng đại tinh chế (IVACRIG) sản xuất tại IVAC là phù hợp để thực hiện trong thực tiễn.

**Từ khóa:** IVACRIG, huyết thanh kháng đại, kiểm tra vô trùng, thẩm định quy trình.

## 1. Đặt vấn đề

Bệnh dại là bệnh lây truyền từ động vật sang người do vi rút dại (Rhabdovirus). Bệnh lưu hành ở nhiều quốc gia trên toàn thế giới. Hàng năm trên toàn cầu ghi nhận khoảng 59.000 trường hợp tử vong ở người tại hơn 150 quốc gia, với 95% các trường hợp ở châu Phi và châu Á. Khu vực Đông Nam Á là điểm nóng của bệnh dại do lượng chó thả rông lớn, tỷ lệ tiêm phòng dại ở vật nuôi còn thấp, tình trạng buôn bán thịt chó mèo đã ghi nhận tại một số quốc gia.

Theo thống kê của Bộ Y tế, ở Việt Nam, nguồn chính gây bệnh dại là chó và mèo (chiếm 98% trong tổng số người đi tiêm chủng và chiếm 100% đối với các trường hợp tử vong do

bệnh dại). Báo cáo tổng kết năm 2024 cho thấy 100% số ca tử vong do bệnh dại là không tiêm vắc xin phòng dại và/hoặc huyết thanh kháng dại; lý do chính không tiêm vì chủ quan cho rằng chó nhà cắn, tại thời điểm cắn chó bình thường nên không đi tiêm phòng (chiếm 63% trong số lý do), ngoài ra còn lý do không hiểu biết về bệnh dại, không đến cơ sở y tế vì sợ không có tiền, dùng thuốc nam/đông y, trẻ nhỏ không nói được với bố mẹ, giết mổ chó [2]. Với tính chất nguy hiểm của bệnh dại, vắc xin và huyết thanh đã sớm được nghiên cứu và đưa vào sử dụng trong các trường hợp bị súc vật nghi bị dại cắn, cào rách qua da, liếm trên vùng da bị trầy xước.

Huyết thanh kháng dại tinh chế (TVACRIG) là chế phẩm chứa globulin miễn dịch điều chế từ huyết thanh ngựa, được sản xuất bởi Viện Vắc xin và sinh phẩm y tế Nha Trang (IVAC), là một trong những sản phẩm huyết thanh kháng dại trên thị trường Việt Nam.

Thử nghiệm vô trùng là một trong những thử nghiệm quan trọng được Tổ chức Y tế Thế giới khuyến cáo để kiểm soát chất lượng vắc xin và sinh phẩm y tế. Thử nghiệm vô trùng nhằm phát hiện tác nhân ngoại lai là các vi sinh vật sống nhiễm vào sản phẩm phải có giá trị và độ tin cậy cao. Thẩm định quy trình kiểm tra vô trùng vắc xin, sinh phẩm y tế chính là thử nghiệm để phát hiện trường hợp âm tính giả, bằng cách sử dụng vi sinh vật chuẩn với nồng độ thấp 10-100 CFU bổ sung vào môi trường có chứa mẫu thử (với phương pháp cấy trực tiếp) hoặc vào chai nước rửa cuối cùng ( với phương pháp màng lọc), sau đó theo dõi sự phát triển của vi sinh vật, từ đó đánh giá độ đặc hiệu của quy trình [3-5]. Do đó, thẩm định quy trình kiểm tra vô trùng Huyết thanh miễn dịch kháng dại (IVACRIG) bằng phương pháp màng lọc được thực hiện tại khoa Môi trường thực nghiệm là cần thiết.

## **2. Phương pháp nghiên cứu**

### **2.1. Đối tượng nghiên cứu**

Quy trình kiểm tra vô trùng bằng phương pháp màng lọc đối với Huyết thanh miễn dịch kháng dại (IVACRIG).

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

Thời gian nghiên cứu từ tháng 8/2025 đến tháng 11/2025, tại Khoa Môi trường Thực nghiệm, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế.

### **2.3. Vật liệu, hóa chất**

#### **2.3.1. Mẫu thử**

Nghiên cứu sử dụng mẫu thử Huyết thanh kháng dại tinh chế (IVACRIG)

do Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế (IVAC) sản xuất. Huyết thanh kháng đại tinh chế (IVACRIG) là chế phẩm chứa globulin miễn dịch kháng đại đoạn F(ab')<sub>2</sub> điều chế từ huyết thanh ngựa Trong 1 lọ (5ml) IVACRIG chứa: Kháng thể kháng vi rút đại: 1000 đvqt (IU). Tá dược: Natri chloride: 0,85-0,9%; Thimerosal: ≤ 0,01%

Mẫu thử nghiệm bao gồm 03 loại Huyết thanh kháng đại tinh chế (IVACRIG).

**Bảng 1. Mô tả mẫu thử**

STT	Số lượng/loại	Hạn sử dụng
1	20 lọ/loại số 135-00-24	24/10/2026
2	20 lọ/loại số 137-00-24	21/11/2026
3	20 lọ/loại số 138-00-24	17/01/2027

### 2.3.2. Nguyên vật liệu

#### a. Môi trường, hóa chất

Nghiên cứu sử dụng môi trường và hóa chất thương mại do Merck Millipore sản xuất:

- Môi trường lỏng Thioglycolat; loại F5DB71031; Hạn sử dụng: 02/04/2026
- Môi trường canh thang tryptic soy; loại: F5CB19886; Hạn sử dụng: 19/03/2026
- Dung dịch Pepton 0,1%, loại : F5CB65685, Hạn sử dụng: 19/03/2026
- Thạch TSA; Code:1.05458.0500, loại: TSA/22/25; Hạn sử dụng: 16/12/2025
- Thạch TSC; Code: 1.19720.500, loại: TSC/08/25; Hạn sử dụng: 20/10/2025
- NaCl pha NMSL; Code: S7653-1KG; loại: NaCl/09/25; Hạn sử dụng: 14/01/2026

Môi trường FTM và TSB sử dụng phải đạt tiêu chuẩn về các tiêu chí: Cảm quan, Vô khuẩn, Hóa lý (thể tích, pH), tính tăng sinh [6].

#### b. Chủng vi sinh vật thử thách [3-5]

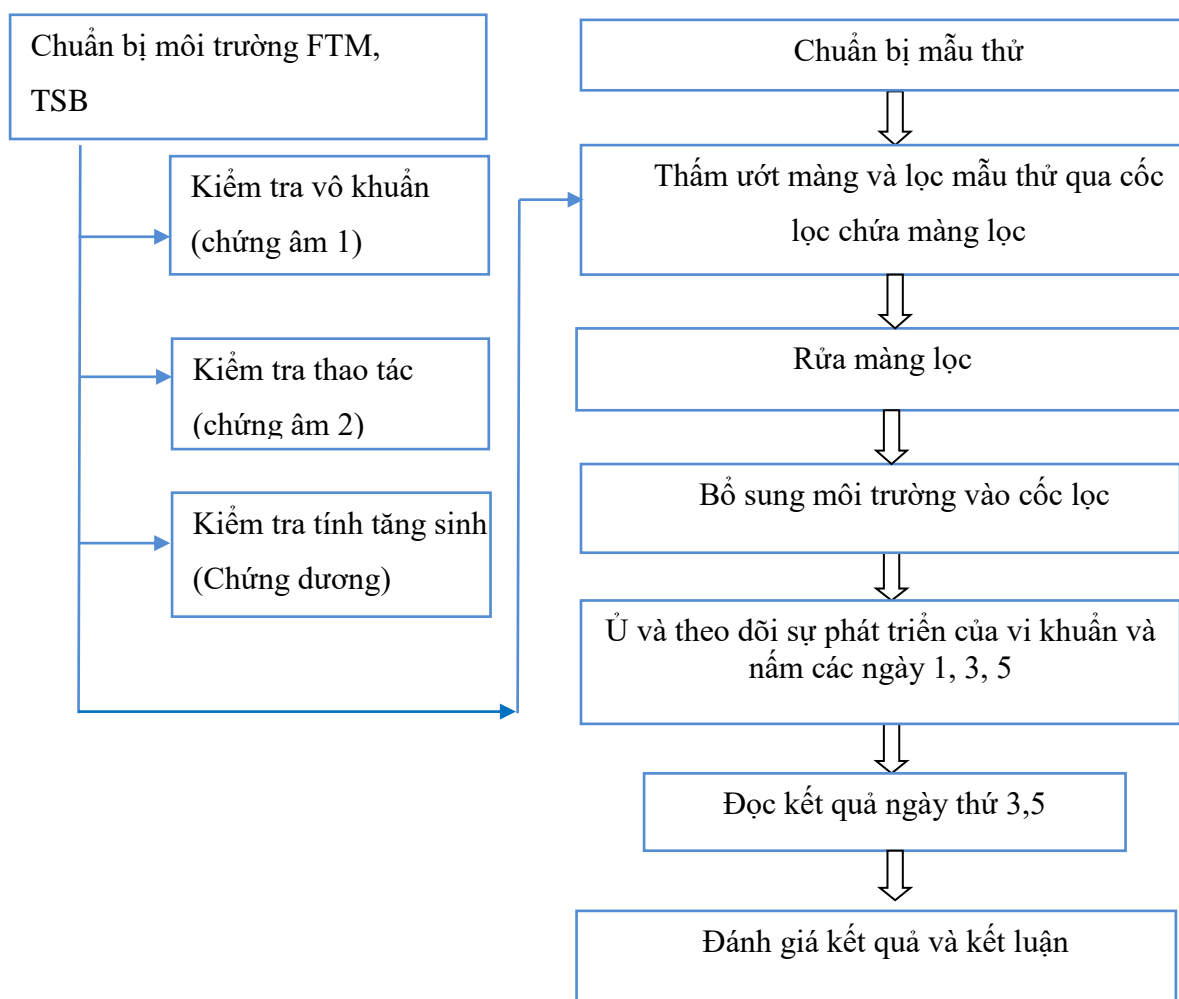
**Bảng 2. Chủng vi sinh vật**

Tên và ký hiệu	Mã chủng
<i>Bacillus spizizenii</i> ATTC 6633	NICVB 0224-F2
<i>Kocurina rhizophila</i> ATCC 9341	ATCC 9341-F1
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 114367	NICVB 0115-F2
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	NICVB 0215-F2

#### c. Dụng cụ và trang thiết bị

Hệ thống tủ cấy vô trùng, tủ ẩm, tủ mát, tủ lạnh, cân phân tích, máy đếm hạt bụi, máy đếm vi khuẩn và nấm trong không khí, Hệ thống Steritest™ Symbio LFH Pump Kit, 2 media, Bộ lọc Steritest NEO devices for soluble powders in vial, mixed cellulose esters membrane 0.45µm và Pipetman 50-200 µl đã được hiệu chuẩn hàng năm theo ISO/IEC 17025.

**2.4. Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu được thực hiện bằng phương pháp mô tả thực nghiệm trong phòng thí nghiệm theo sơ đồ:



**Hình 1. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu**

## **2.5. Phương pháp nghiên cứu**

### **2.5.1. Tiêu chí**

Phương pháp tiêu chuẩn (Phụ lục 15.7, Dược điển Việt Nam V) [5].

Thẩm định một phần [3-8].

Độ đặc hiệu (Specificity) được thể hiện bằng cách chứng minh rằng việc xác định và định lượng chất phân tích không bị ảnh hưởng bởi sự hiện diện của các chất khác.

Thẩm định tại khoa được thiết kế bằng cách nhỏ các chủng vi sinh vật thử thách (từ 10 - 100 CFU) vào chai nước rửa cuối cùng. Sau thời gian ủ, cần quan sát sự phát triển của vi sinh vật thử thách trong môi trường [3-9].

### 2.5.2. Cỡ mẫu và phương pháp thực hiện

Cỡ mẫu: 60 lọ huyết thanh IVACRIG chia thành 3 lần thử nghiệm.

Với mỗi thử nghiệm, cần kiểm tra và theo dõi

- Chứng dương: kiểm tra tính tăng sinh của hai môi trường FTM và TSB.
- Chứng âm : Chứng âm 1 (chứng môi trường sử dụng); Chứng âm 2 (kiểm tra thao tác thực hiện quy trình thử nghiệm); Chứng giám sát môi trường trong khi thực hiện thử nghiệm.
- Lọc mẫu thử, nhỏ 4 vi sinh vật chuẩn vào 4 chai nước rửa cuối cùng và bổ sung môi trường vào 4 cốc lọc.

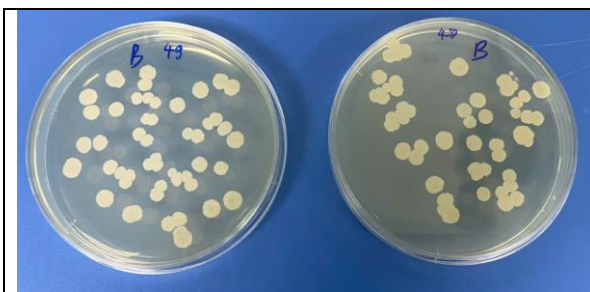
### 2.5.3. Xử lý và phân tích số liệu:

- Chứng dương và cốc có lọc mẫu thử: Theo dõi sự mọc của vi sinh vật; đánh giá kết quả sau 3 ngày đối với vi khuẩn *Bacillus subtilis*, *Kocurina rhizophila*, *Clostridium sporogenes* và 5 ngày đối với nấm *Candida albicans*.

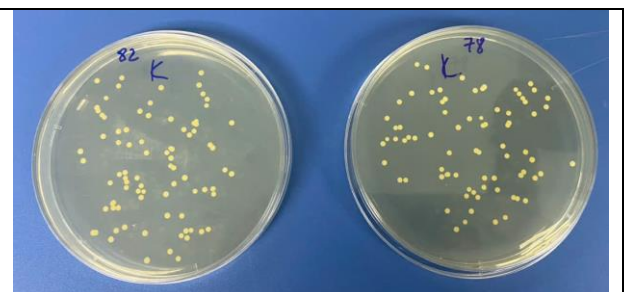
- Chứng âm: theo dõi trong vòng 14 ngày ghi nhận không có sự phát triển của vi sinh vật trong tất cả các chai/ cốc môi trường.

## 3. Kết quả

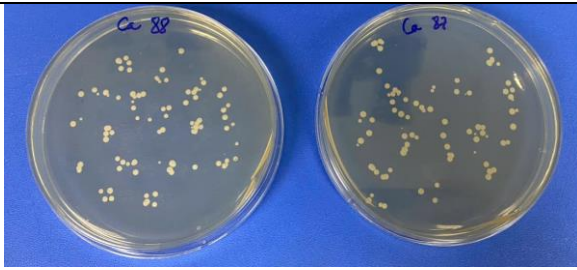
### 3.1. Kết quả cấy đếm vi sinh vật trên môi trường đặc



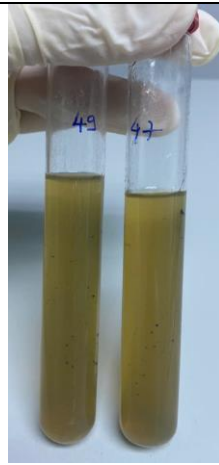
**Hình 2. Thạch TSA sau cấy chủng *Bacillus spizizenii* 03 ngày**



**Hình 3. Thạch TSA sau cấy chủng *Kocuria rhizophila* 03 ngày**



**Hình 4. Thạch Sabouraud sau cấy chủng *Candida albicans* 05 ngày**



**Hình 5. Thạch TSC sau cấy chủng *Clostridium sporogenes* 01 ngày**

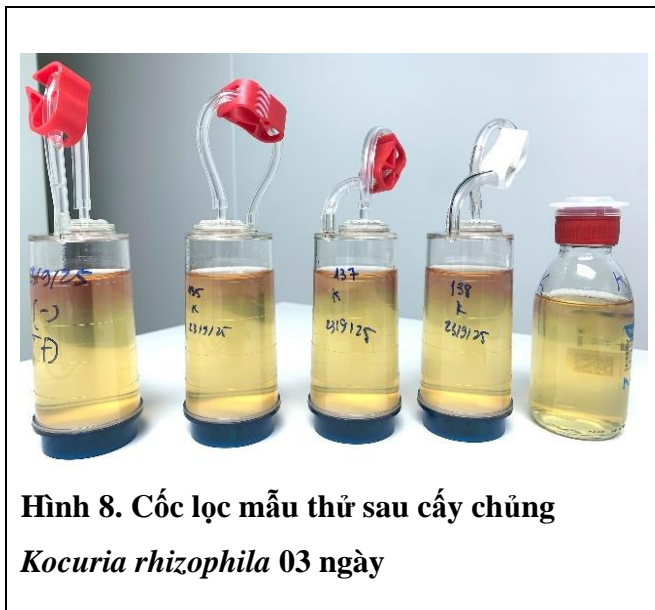
### 3.2. Kết quả thử nghiệm thẩm định trên môi trường lỏng



**Hình 6. Cốc lọc mẫu thử sau cấy chủng *Bacillus spizizenii* 03 ngày**



**Hình 7. Cốc lọc mẫu thử sau cấy chủng *Candida albicans* 05 ngày**



**Hình 8. Cốc lọc mẫu thử sau cấy chủng *Kocuria rhizophila* 03 ngày**



**Hình 9. Cốc lọc mẫu thử sau cấy chủng *Clostridium sporogenes* 01 ngày**

### 3.3. Chứng âm



#### ***Chứng âm 1 ( kiểm tra vô khuẩn môi trường)***

**Kết luận:** Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm trong các chai môi trường trong 14 ngày theo dõi.

#### ***Chứng âm 2 (Chứng âm thao tác)***

**Kết luận:** Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm trong các chai môi trường trong 14 ngày theo dõi.



### 3.4. Chứng dương



Kết luận: Có sự phát triển rõ rệt của vi sinh vật trong các ống cấy vi khuẩn trong vòng 3 ngày, các ống cấy nấm trong vòng 5 ngày sau khi cấy chủng vi sinh vật thử thách với số lượng <math><100\text{CFU}</math>.

### 4. Bàn luận

Theo kết quả nghiên cứu:

- Chứng âm 1,2: Không có sự phát triển của vi sinh vật trong tất cả các ống môi trường trong 14 ngày theo dõi.
- Chứng dương đạt yêu cầu: Chứng kiểm tra tính tăng sinh của 2 môi trường FTM và TSB: Có sự phát triển rõ rệt của vi khuẩn trong vòng 3 ngày và nấm trong vòng 5 ngày sau khi cấy <math><100\text{CFU}</math> vi sinh vật thử thách.
- Số khuẩn lạc trung bình đếm được trên các đĩa thạch đối với mỗi chủng nằm trong khoảng từ <math><100\text{CFU}</math> [5].
- Ba mẫu thẩm định có sự phát triển rõ rệt của vi khuẩn trong vòng 3 ngày và nấm trong 5 ngày ở tất cả các ống môi trường sau khi cấy chủng vi sinh vật thử thách <math><100\text{CFU}</math>.

Các kết quả trên phù hợp tiêu chuẩn đánh giá ban đầu nhóm nghiên cứu đặt ra.

## 5. Kết luận

Quy trình kiểm tra vô trùng bằng phương pháp màng lọc đối với huyết thanh kháng đại tinh chế (IVACRIG) sản xuất tại Viện Vắc xin và Sinh phẩm y tế là phù hợp để thực hiện trong thực tiễn. Quy trình có khả năng phát hiện vi sinh vật nhiễm trong mẫu vắc xin với số lượng <100 CFU, phù hợp với các tiêu chuẩn hiện hành.

## Tài liệu tham khảo

[1] Viện Vắc xin và Sinh phẩm y tế. *Hướng dẫn sử dụng huyết thanh kháng đại tinh chế (IVACRIG)*. Nha Trang: Viện Vắc xin và Sinh phẩm y tế; 2024.

[2] Bộ Y tế. Thông tin báo chí về bệnh dại (2025). *VnExpress* [Internet]. 2025 [trích dẫn ngày 20/11/2025]. Có tại: [https://moh.gov.vn/tin-lien-quan/-/asset\\_publisher/vjYyM7O9aWnX/content/thong-tin-bao-chi-ve-benh-dai](https://moh.gov.vn/tin-lien-quan/-/asset_publisher/vjYyM7O9aWnX/content/thong-tin-bao-chi-ve-benh-dai).

[3] Council of Europe European. Sterility. *European pharmacopoeia 11.0*. Strasbourg: Council of Europe; 2005.

[4] The Council of Experts and its Expert committees of the United States Pharmacopeial convention. Sterility test. *USP 37*. Rockville: United States Pharmacopeial convention; 2014. p. 71-75.

[5] Bộ Y tế. Kiểm tra độ vô trùng (Phụ lục 15.7). *Dược điển Việt Nam V*. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học; 2017. tr. PL368-PL370.

[6] Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế. *SOP MT 02-43: Kiểm tra chất lượng môi trường FTM, TSB*. Hà Nội: Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế; 2024.

[7] Pharmaceutical Inspection Convention and the Pharmaceutical Inspection Cooperation Scheme. *Recommendation on sterility testing*. Geneva: PIC/S; 2007. p.8-11.

[8] Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế. *SOP KĐQG-34: Thẩm định quy trình*. Hà Nội: Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế; 2025. tr.12-13.

[9] International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceutical for Human Use. *Validation of analytical procedures Q2(R2)*. Geneva: ICH; 2022. p.3.