EVALUATING THE QUALITY OF MRC5 WORKING CELL BANK USED IN VACCINE QUALITY CONTROL

Nguyen Thi Van Quynh[1]*, Trieu Thanh Hai[1], Ngo Phi Phuong[1], Nguyen Hoang Tung[1], Phan Hong Hoa[2], Nguyen Thu Hao[2], Vũ Tiến Dũng[2]

[1]National Institute for Control of Vaccines and Biologicals
[2]The company of Vaccine and Biological Production No.1

Received 24 September 2026

Accepted 30 September 2026

Abstract: MRC5 is a human diploid cell line widely used in vaccine research and quality control. This study was conducted to evaluate the quality of the MRC5 WCB 0125 P31/ NICVB Working Cell Bank in accordance with the recommendations of the World Health Organization (WHO). The Working Cell Bank at passage 31 (P31) was produced from the MRC5 P26 seed cell stock, originating from the international reference cell line obtained from the European Collection of Authenticated Cell Cultures (ECACC). The evaluated parameters included morphological identity, sterility, inter-vial homogeneity, cell viability (averaging 1,07 x 10^6 cells/ml, viability> 80%), *Mycoplasma*, *Mycobacterium tuberculosis*, and *in vitro* adventitious agents. The results demonstrated that the MRC5 WCB 0125 P31/ NICVB Working Cell Bank fully met all quality requirements. The product exhibited high inter-laboratory reproducibility verified by independent parallel testing at two laboratories (NICVB and VABIOTECH), making it ready for implementation as a secondary reference standard for vaccine research and quality control.

***Keywords**: MRC5; Working Cell Bank; Vaccine quality control.*

* Corresponding author:
E-mail address: vanquynh1074@gmail.com
Https://doi.org/10.56086/jcvb.v6i3.268

ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG NGÂN HÀNG TẾ BÀO LÀM VIỆC MRC5 DÙNG TRONG KIỂM ĐỊNH VẮC XIN

Nguyễn Thị Vân Quỳnh[1]*, Triệu Thanh Hải[1], Ngô Phi Phương[1], Nguyễn Hoàng Tùng[1], Phan Hồng Hoa[2], Nguyễn Thu Hảo[2]

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

[2]Công ty TNHH MTV Vắc xin và Sinh phẩm số 1

Nhận ngày 24 tháng 09 năm 2026

Chấp nhận đăng ngày 30 tháng 09 năm 2026

Tóm tắt: Tế bào MRC5 là dòng tế bào lưỡng bội người được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu và kiểm định chất lượng vắc xin. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá chất lượng ngân hàng tế bào làm việc MRC5 WCB 0125 P31/NICVB theo các khuyến cáo của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO). Ngân hàng tế bào được sản xuất ở đời cấy truyền thứ 31 (P31) từ tế bào gốc giống MRC5 P26, có nguồn gốc từ dòng tế bào chuẩn quốc tế MRC5 của Ngân hàng Tế bào Chuẩn Châu Âu. Các chỉ tiêu đánh giá bao gồm: hình thái tế bào, vô trùng, tính đồng nhất giữa các ống, độ sống tế bào (đạt 1,07 x 10^6 tế bào/ml, tỷ lệ sống > 80%), kiểm tra *Mycoplasma*, vi khuẩn lao và các tác nhân ngoại lai *in vitro*. Kết quả cho thấy ngân hàng tế bào làm việc MRC5 WCB 0125 P31/NICVB đáp ứng đầy đủ các yêu cầu chất lượng. Sản phẩm đạt độ tương đồng cao qua kiểm định độc lập song song tại hai phòng thí nghiệm (NICVB và VABIOTECH), sẵn sàng đưa vào làm mẫu chuẩn thứ cấp phục vụ nghiên cứu và kiểm định vắc xin.

***Từ khoá**: MRC5; ngân hàng tế bào* làm việc*; kiểm định chất lượng.*

1. Đặt vấn đề

Sự phát triển của công nghệ nuôi cấy tế bào đã tạo nền tảng cho việc sử dụng tế bào làm cơ chất trong nghiên cứu, sản xuất và kiểm định chất lượng vắc xin, sinh phẩm y tế và các thuốc có nguồn gốc sinh học. Từ những năm 1960, tế bào lưỡng bội người đã được nghiên cứu như một nguồn cơ chất thay thế tế bào thận khỉ tiên phát trong sản xuất vắc xin bại liệt và một số vắc xin vi rút khác. So với tế bào tiên phát, tế bào lưỡng bội người có nhiều ưu điểm, như có thể bảo quản tế bào ở mức độ nhân đôi thấp; có thể thiết lập và mô tả đặc tính các ống tế bào được cất giữ mà sau này có thể mở rộng để cung cấp nguồn tế bào tiêu chuẩn cho nhiều thập kỷ; đánh giá chất lượng các tế bào trước khi sử dụng trong sản xuất vắc xin; chứng minh được các tế bào không bị nhiễm các tác nhân ngoại lai và chúng không có khả năng tạo khối u khi tiêm vào động vật giảm miễn dịch [1]. Cùng với nhu cầu bảo quản và kiểm soát chất lượng tế bào, hệ thống ngân hàng tế bào giống gốc (Master Cell Bank – MCB) và ngân hàng tế bào làm việc (Working Cell Bank – WCB) đã được hình thành. Hệ thống MCB–WCB giúp kiểm soát số lần cấy truyền, duy trì tính nhất quán giữa các lô tế bào, hạn chế nguy cơ biến đổi đặc tính và nhiễm tác nhân ngoại lai, đồng thời bảo đảm khả năng truy xuất nguồn gốc trong quá trình sử dụng [1,4].

Dòng tế bào nguyên bào sợi lưỡng bội người MRC5 (2n = 46), được phân lập từ mô phổi thai nhi 14 tuần tuổi theo phương pháp của Hayflick, từ lâu đã trở thành chất nền sinh học (substrate) thiết yếu trong công tác sản xuất và kiểm định vắc xin. Nhờ đặc tính ổn định di truyền và độ nhạy cảm cao với nhiều loại vi rút, việc chủ động thiết lập và kiểm soát nghiêm ngặt chất lượng ngân hàng tế bào MRC5 là yêu cầu bắt buộc đối với các cơ sở kiểm định quốc gia [9-13]. MRC5 tiếp tục được sử dụng trong sản xuất 4 loại vắc xin Varicella, Rubella, Viêm gan A, và 1 trong những loại vắc xin phòng bệnh dại [10]. Trên thế giới các hãng sản xuất vắc xin viêm gan A bất hoạt sử dụng các chủng vi rút viêm gan A (GBM, RS-SB, HM175) như vắc xin Avaxim của Aventis Pasteur, Epaxal Berna của Crucell-Thụy Sĩ, vắc xin Havrix và Twinrix của Glaxo Smith Kline trên dòng tế bào MRC5 [9,13].

Thực tế hiện nay, Việt Nam là quốc gia có nền sản xuất vắc xin và sinh phẩm y tế và cơ quan quốc gia quản lý vắc xin của Việt Nam đạt tiêu chuẩn của WHO từ năm 2015 đến 2026. Do vậy việc chủ động thiết lập các mẫu chuẩn thứ cấp bao gồm (vắc xin mẫu chuẩn, kháng huyết thanh chuẩn, độc tố chuẩn, chủng vi rút hoặc vi khuẩn chuẩn, ngân hàng tế bào chuẩn …) được gọi là mẫu chuẩn quốc gia hoặc mẫu chuẩn in-house nếu là do nhà sản xuất thiết lập và sử dụng mẫu chuẩn quốc tế để đánh giá chất lượng hoặc nối chuẩn với các mẫu chuẩn thứ cấp. Một trong các mẫu chuẩn là ngân hàng tế bào (trong đó ngân hàng tế bào MCB và WCB) để chủ động trong công tác nghiên cứu, và kiểm định chất lượng vắc xin theo đúng qui định của cơ quan quốc gia quản lý vắc xin (NRA) đạt yêu cầu theo khuyến cáo của WHO [1-3].

Xuất phát từ nhu cầu thực tế, ngân hàng tế bào làm việc MRC5 WCB 0125 P31/ NICVB được thiết lập và đánh giá chất lượng về các chỉ tiêu gồm kiểm tra hình thái tế bào, vô trùng, độ sống, tính đồng nhất giữa các ống tế bào, *Mycoplasma*, vi khuẩn lao và các tác nhân ngoại lai. Kết quả đánh giá là cơ sở để xác định chất lượng và tính phù hợp của ngân hàng tế bào trên nhằm chủ động nguồn tế bào phục vụ nghiên cứu và kiểm định chất lượng vắc xin.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Ngân hàng tế bào làm việc MRC5 WCB 0125 P31/NICVB

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian: Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 04/2025 đến tháng 12/2025

Địa điểm nghiên cứu: Khoa Môi trường Thực nghiệm – Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB) và Labo Kiểm định chất lượng vắc xin của công ty TNHH MTV Vắc xin và Sinh phẩm số 1 (VABIOTECH).

2.3. Nguyên vật liệu phục vụ nghiên cứu

2.3.1. Mẫu chuẩn và mẫu thử

Tế bào Vero chuẩn Vero 76 NICVB/ WCB01-19 được thiết lập từ ATCC 76 (ATCC CRL^{M}-1587^{TM}); tế bào lưỡng bội phổi người MRC5 (P26), ATCC CCL-171; Tế bào thận thỏ RK13 (P182) ATCC CCL-37; tế bào thận khỉ xanh Châu Phi Vero (P30) ATCC CCL-81; chủng *Mycoplasma pneumoniae* và *Mycoplasma orale.*

2.3.2. Môi trường, hoá chất

Môi trường MEM, DMEM, Huyết

thanh bào thai bê (FBS), PBS 1X, Dung dịch Trypsin, Tripsin LE, Fungizon, Kanamycin, $NaHCO_3$ 7,5%, L-glutamine, TSA, PPLO.

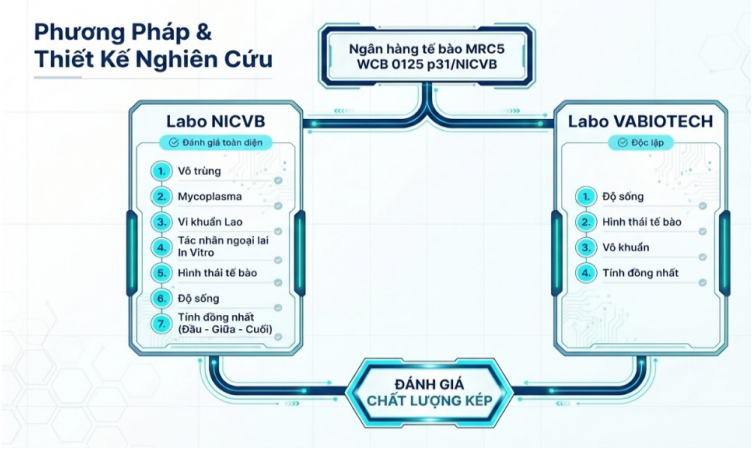
2.3.3. Trang thiết bị

Hốt Bio II A Advance 4, Telstar; Tủ ấm (36±1)˚C, có CO_2; Tủ ấm 35˚C Sanyo; Kính hiển vi đảo chiều Olympus Máy ly tâm lạnh Beckman, Tủ lạnh -80˚C Sanyo; Tủ lạnh -20˚C Kawachi; Tủ lạnh 2-8˚C; Bể ổn nhiệt; Cân phân tích; Máy đo pH Thermo.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Sử dụng phương pháp nghiên cứu mô tả thực nghiệm.

Thực hiện đánh giá chất lượng tại 2 labo độc lập khác nhau và đối chiếu kết quả



Hình 1. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

2.5. Xử lý và phân tích số liệu

Số liệu thu được trong nghiên cứu được tổng hợp và phân tích số liệu kết quả bằng phần mềm Microsoft Excel, tính giá trị ±2SD phân tích và đánh giá kết quả.

2.6. Đạo đức nghiên cứu

Đề tài được thực hiện trong phòng thí nghiệm, không thực hiện trên người.

3. Kết quả nghiên cứu

Ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB có nguồn gốc từ tế bào gốc chuẩn quốc tế MRC5 ECACC P26 (Hình 2) được nghiên cứu đánh giá chất lượng theo tham khảo tiêu chuẩn của WHO với các tiêu chí vô trùng, độ sống, *Mycoplasma*, vi khuẩn lao, tính đồng nhất, kiểm tra tác nhân ngoại lai cho kết quả cụ thể như sau:



Hình 2. Ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB

3.1. Kết quả kiểm tra vô trùng

Kết quả kiểm tra vô trùng ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB trên môi trường tăng sinh phát hiện vi khuẩn và nấm sau 14 ngày theo dõi theo hướng dẫn Dược điển Việt Nam VI, 2025, phụ lục 15.7 cho kết quả đạt yêu cầu như bảng 1.

Bảng 1. Kết quả kiểm tra vô trùng

STT	Mẫu thử	Phương pháp	Tiêu chuẩn	Kết quả	Đánh giá
1	MRC5 WCB 0125 P31/NICVB	Nuôi cấy trên MT Thioglycolate (30-35°C)	Không phát hiện vi khuẩn và nấm sau 14 ngày	Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm sau 14 ngày	Đạt yêu cầu
2		Nuôi cấy trên MT Soybean (20-25°C)	Không phát hiện vi khuẩn và nấm sau 14 ngày	Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm sau 14 ngày	Đạt yêu cầu

3.2. Kết quả kiểm tra Mycoplasma

Ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB được tiến hành kiểm tra *Mycoplasma* đặc hiệu bằng phương pháp nuôi cấy trên môi trường chuyên biệt PPLO lỏng và thạch, theo hướng dẫn tại Dược điển Việt Nam VI, 2025, phụ lục 15.47 cho kết quả đạt yêu cầu như bảng 2

Bảng 2. Kết quả kiểm tra *Mycoplasma*

Mẫu thử	Phương pháp	Tiêu chuẩn	Kết quả	Đánh giá
MRC5 WCB 0125 P31/ NICVB	Nuôi cấy trên môi trường PPLO lỏng I, II và thạch PPLO	Không phát hiện khuẩn lạc đặc trưng và không đổi màu môi trường PPLO sau 28 ngày theo dõi	Không phát hiện khuẩn lạc trên môi trường thạch và đổi màu trên môi trường PPLO sau 28 ngày theo dõi	Đạt yêu cầu

3.3. Kết quả kiểm tra vi khuẩn lao

Kiểm tra vi khuẩn lao được thực hiện bằng phương pháp nuôi cấy trên môi trường đặc hiệu Lowenstein Jensen cho kết quả ngân hàng MRC5 WCB 0125 P31/NICVB đạt yêu cầu về tiêu chí kiểm tra vi khuẩn lao như bảng 3.

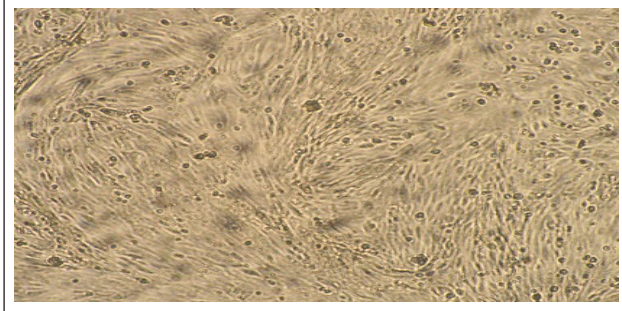
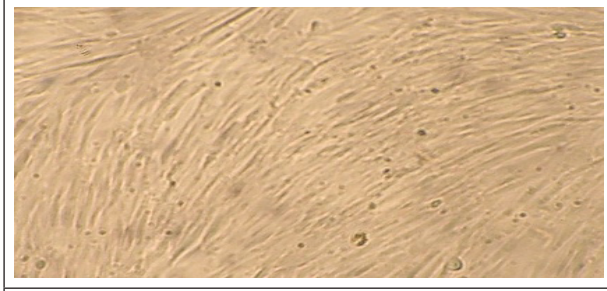
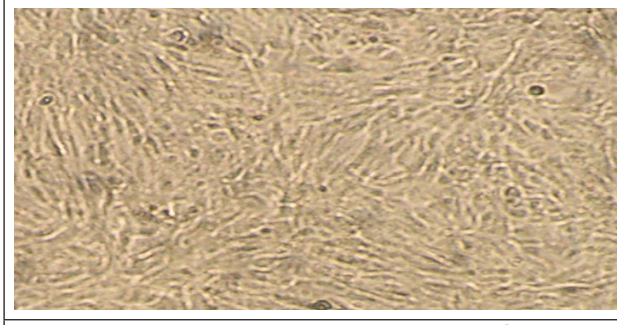
Bảng 3. Kết quả kiểm tra vi khuẩn lao

Mẫu thử	Phương pháp	Tiêu chuẩn	Kết quả	Đánh giá
MRC5 WCB 0125 P31/ NICVB	Nuôi cấy trên MT Lowenstein Jensen	Không phát hiện vi khuẩn lao	Không có sự phát triển của vi khuẩn lao	Đạt yêu cầu

3.4. Kết quả kiểm tra tác nhân ngoại lai trên in vitro

Kiểm tra tác nhân ngoại lai ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB trên in vitro được thực hiện trên 3 dòng tế bào Vero ATCC CCL-81; RK13 ATCC CCL-37 và MRC5 ATCC CCL-171 sau khi gây nhiễm mẫu thử tế bào MRC5 WCB 0125 p31/NICVB sau 14 ngày theo dõi cho kết quả như bảng 4.

Bảng 4. Kết quả kiểm tra tác nhân ngoại lai trên invitro

Thử nghiệm	**Tiêu chuẩn**	**Tế bào**	**Kết quả/mẫu**
			MRC5 WCB 0125 P31/NICVB
Tác nhân ngoại lai in vitro	Không có CPE và vi rút gây hấp phụ hồng cầu trong hỗn dịch tế bào gây nhiễm mẫu thử	RK13	
			Không có vi rút gây CPE trong các chai tế bào RK13 Không có vi rút gây hấp phụ hồng cầu.
		MRC5	
			Không có vi rút gây CPE trong các chai tế bào RK13 Không có vi rút gây hấp phụ hồng cầu.
		Vero ATCC CCL-81	
			Không có vi rút gây CPE trong các chai tế bào RK13 Không có vi rút gây hấp phụ hồng cầu.

Kết quả cho thấy hoàn toàn không phát hiện tác nhân ngoại lai. Tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB đạt yêu cầu về tác nhân ngoại lai theo tiêu chuẩn WHO TRS 978 annex 3, 2013 và Dược điển Châu Âu.

3.5. Kết quả kiểm tra độ sống

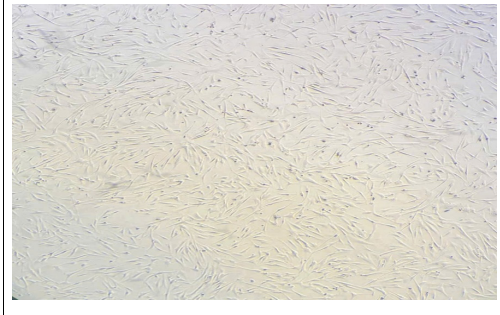
Kết quả độ sống được tiến hành đếm số đơn vị sống của tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB trên các ống tế bào sau khi rã đông từ nitơ lỏng, thử nghiệm được lập lại 6 lần cho kết quả như bảng 5.

Bảng 5. Kết quả kiểm tra độ sống ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB

Mẫu thử	Phương pháp	Tiêu chuẩn	Kết quả trung bình 6 lần TN	Đánh giá
MRC5 WCB 0125 p31/NICVB	Nuôi cấy trên môi trường MEM10%FBS	≥ 80% tb khi cất giữ (≥ 0,8 x10^6 tb/ml/ống)	1,07 x 10^6 tb/ml/ống	Đạt yêu cầu

Hình thái tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB đặc trưng khi quan sát trên kính hiển vi quang học khi nuôi cấy trên môi trường MEM10%FBS sau nuôi cấy như sau:

TẾ BÀO MRC5 (KÝ HIỆU MRC5 WCB 0125 P31/NICVB)

Thời gian nuôi cấy sau khi lấy từ môi trường bảo quản tế bào	Hình thái tế bào MRC5 sau khi nuôi cấy
2 ngày	
4 ngày	
5 ngày	

Hình 3. Hình thái đặc trưng tế bào MRC5 nuôi cấy trong MEM1X 10%FBS (100X)

Kết quả kiểm tra hình thái tế bào (hình 3), tế bào MRC5 nguyên bào sợi đặc trưng phát triển bám dính tốt trên mặt chai nuôi cấy tế bào với môi trường MEM 1X 10% FBS.

Kết quả bảng 5 cho thấy hình thái đặc trưng của tế bào MRC5 và độ sống của ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/ NICVB tương ứng là 1,07 x 10^6 tb/ml/ống, đạt tiêu chuẩn theo hướng dẫn kỹ thuật của WHO và Dược điển Châu Âu.

3.6. Kết quả kiểm tra tính đồng nhất các ống tế bào

Thử nghiệm kiểm tra tính đồng nhất được tiến hành tại các thời điểm đầu-giữa--cuối giai đoạn sản xuất đóng ống ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NIC-VB. Tại mỗi thời điểm thử nghiệm lặp lại 3 lần tương đương 9 ống tế bào lấy ngẫu nhiên cho kết quả như bảng 6.

Bảng 6. Kết quả tính đồng nhất các ống tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB

Lần kiểm tra Tiêu chuẩn(10^6/ml)		**MRC5 WCB 0125 P31/NICVB**		
		Ống số	**Kết quả (10^6/ml)**	
Đầu qui trình	1	Số lượng tế bào nằm trong khoảng ±2SD (0,80 -1,20 x$10^{6\ TB}$/ml)	9	1,16
	2		32	1,05
	3		68	1,05
Giữa qui trình	1		130	1,09
	2		131	1,16
	3		133	0,94
Cuối qui trình	1		214	1,16
	2		223	1,08
	3		224	0,98
Xtb				1,07x10^6 (tế bào /ml)

Kết quả bảng 6 cho thấy tại các thời điểm phân ống đầu - giữa - cuối đều đạt tiêu chuẩn ≥ 80% nồng độ tế bào cất giữ (1,0x10^6 tế bào/ống/ml) và số lượng tế bào sống nằm trong khoảng ±2SD (0,80 -1,20 x10^6 tế bào/1 ống), đạt yêu cầu về tính đồng nhất giữa các ống tế bào.

3.7. Kết quả kiểm tra chất lượng ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/ NICVB tại VABIOTECH

Ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB được kiểm tra chất lượng về độ sống, hình thái, tính đồng nhất, vô khuẩn tại labo kiểm định độc lập của VABIOTECH cho kết quả như bảng 7.

Bảng 7. Kết quả phân tích tại labo VABIOTECH

Tên thử nghiệm	Phương pháp	Tiêu chuẩn	Ngày thực hiện	Tên mẫu	Kết quả	Đánh giá
Kiểm tra độ sống	Đếm tế bào	≥80% số lượng so với ban đầu (≥0.8×10^6 tế bào/ml)	25.08.25	WCB-0125-Số 28 WCB-0125-Số 10 WCB-0125-Số 20 WCB-0125-Số 100 WCB-0125-Số 92 WCB-0125-Số 82 WCB-0125-Số 181 WCB-0125-Số 171 WCB-0125-Số 217	1,05 ×10^6 tế bào/ml 0,98 ×10^6 tế bào/ml 0,94 ×10^6 tế bào/ml 0,91 ×10^6 tế bào/ml 0,96 ×10^6 tế bào/ml 1,05 ×10^6 tế bào/ml 0,88 ×10^6 tế bào/ml 0,96 ×10^6 tế bào/ml 0,99 ×10^6 tế bào/ml	Đạt
Kiểm tra hình thái tế bào	Nuôi cấy tế bào	Sau 2-5 ngày nuôi cấy tế bào phát triển tốt, hình thái đồng đều	25.08.25	WCB-0125-Số 28 WCB-0125-Số 10 WCB-0125-Số 20 WCB-0125-Số 100 WCB-0125-Số 92 WCB-0125-Số 82 WCB-0125-Số 181 WCB-0125-Số 171 WCB-0125-Số 217	Sau 2-5 ngày nuôi cấy tế bào phát triển tốt, hình thái đồng đều	Đạt
Kiểm tra vô khuẩn	Nuôi cấy trực tiếp	Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm trong các ống môi trường sau 14 ngày theo dõi	26.08.25 -09.09.25	WCB-0125-Số 28 WCB-0125-Số 10 WCB-0125-Số 20 WCB-0125-Số 100 WCB-0125-Số 92 WCB-0125-Số 82 WCB-0125-Số 181 WCB-0125-Số 171 WCB-0125-Số 217	Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm trong các ống môi trường sau 14 ngày theo dõi	Đạt
Kiểm tra tính đồng nhất	Đếm tế bào	Số lượng tế bào nằm trong khoảng ±2SD (0,85 - 1,08×10^6 tế bào/ml)	25.08.25	WCB-0125-Số 28 WCB-0125-Số 10 WCB-0125-Số 20 WCB-0125-Số 100 WCB-0125-Số 92 WCB-0125-Số 82 WCB-0125-Số 181 WCB-0125-Số 171 WCB-0125-Số 217	1,05 ×10^6 tế bào/ml 0,98 ×10^6 tế bào/ml 0,94 ×10^6 tế bào/ml 0,91 ×10^6 tế bào/ml 0,96 ×10^6 tế bào/ml 1,05 ×10^6 tế bào/ml 0,88 ×10^6 tế bào/ml 0,96 ×10^6 tế bào/ml 0,99 ×10^6 tế bào/ml	Đạt

Kết quả phân tích ở bảng 7 cho thấy ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB đạt tiêu chuẩn chất lượng về vô khuẩn, độ sống, hình thái tế bào và tính đồng nhất giữa các ống tế bào trong ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB.

4. Bàn luận

Tại Viện kiểm định tế bào MRC5 được sử dụng trong kiểm định các loại vắc xin thủy đậu, kiểm định ngân hàng chủng và ngân hàng tế bào dùng trong sản xuất kiểm định vắc xin. Việc tự chủ nguồn tế bào chuẩn, đặc biệt là dòng tế bào lưỡng bội người MRC5 đóng vai trò cốt lõi trong công tác kiểm định và nghiên cứu vắc xin vi rút. Nghiên cứu này đã thiết lập thành công ngân hàng tế bào làm việc MRC5 WCB 0125 P31/NICVB gồm 224 ống từ tế bào giống gốc chuẩn châu Âu (ECACC). Việc đánh giá chất lượng ngân hàng được thực hiện dựa trên các quy chuẩn của WHO TRS. 978 (2013), Dược điển Châu Âu và Dược điển Việt Nam [1,4,5], đồng thời được đối chiếu chéo tại hai phòng thí nghiệm độc lập (NICVB và VABIOTECH), khẳng định độ tin cậy và tính khách quan của dữ liệu.

Ngân hàng mẫu chuẩn tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB được sản xuất từ tế bào gốc chuẩn MRC5 P26 với số lượng 224 ống đạt yêu cầu chất lượng theo hướng dẫn kỹ thuật của WHO số 978, 2013, Dược điển Châu Âu và Dược điển Việt Nam kèm theo hướng dẫn sử dụng, có thể sử dụng trong vòng 5 năm được cất giữ trong bình nitrogen lỏng -196ºC [1, 4]

Ngân hàng tế bào được đánh giá chất lượng về cá tiêu chí: độ sống, hình thái, tính đồng nhất giữa các ống tế bào, vô trùng, *Mycoplasma*, vi khuẩn lao và kiểm tra virus ngoại lai.

Về vô trùng: Việc kiểm tra vi khuẩn và nấm được thực hiện trên sản phẩm cuối cùng. Kết quả cho thấy ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB đạt yêu cầu về vô trùng theo tiêu chuẩn của WHO, Dược điển Châu Âu và Dược điển Việt Nam [5]

Về kiểm tra *Mycoplasma*: Thử nghiệm kiểm tra *Mycoplasma* trong các ngân hàng tế bào chuẩn là rất quan trọng, vì *Mycoplasma* là tác nhân lây nhiễm phổ biến, có thể làm thay đổi đáng kể các tế bào nuôi cấy, là sai lệch kết quả nghiên cứu và kiểm định. Phương pháp nuôi cấy *Mycoplasma* trên môi trường lỏng và đặc là phương pháp được WHO và FDA khuyến cáo đối với những ngân hàng tế bào giống hoặc chủng virus giống nuôi cấy trên tế bào. Kết quả kiểm tra cho thấy ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB đạt yêu cầu về kiểm tra *Mycoplasma* [6]

Về độ sống: Tế bào được nuôi cấy trên môi trường MEM 10% FBS cho kết quả hình thái tế bào MRC5 đặc trưng khi quan sát trên kính hiển vi, có độ sống trung bình qua các lần kiểm tra đều ≥ 80% với tỷ lệ 1,07 x 10^6 tế bào/ống/ml tại NICVB và 3 tháng sau sản xuất là 0,97x 10^6 tế bào /ống/ml tại VABIOTECH, đạt yêu cầu về độ sống [1]

Tính đồng nhất giữa các ống tế bào là chỉ tiêu để xác định sự đồng đều về nồng độ tế bào để đảm bảo sự ổn định qua mỗi lần sử dụng. Các ống tế bào được tiến hành kiểm tra độ sống các thời điểm đầu - giữa - cuối quy trình đóng ống cho kết quả đều nằm trong khoảng ±2SD tại cả 2 đơn vị

labo độc lập. Ngân hàng đạt yêu cầu về tính đồng nhất theo tiêu chuẩn hướng dẫn kỹ thuật của WHO số 978, phụ lục 3[1]. Các kết quả nghiên cứu thực hiện giữa 2 phòng thí nghiệm cho thấy độ tương đồng rất cao.

Kiểm tra tác nhân ngoại lai invitro trên 3 dòng tế bào Vero, RK13, MRC5 khác loạt. Kết quả cho thấy không phát hiện tác nhân ngoại lai trong quá trình nuôi cấy và sản xuất ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/NICVB, đạt yêu cầu theo hướng dẫn của WHO. Trong khuôn khổ nghiên cứu này chúng tôi không tiến hành kiểm tra tác nhân ngoại lai invivo do quá tình nuôi cấy và thiết lập ngân hàng không liên quan đến động vật đồng thời các nguyên vật liệu có CoA kiểm soát chất lượng đầy đủ. Mặt khác, các tài liệu hướng dẫn mới của WHO/ ICH/EP về xu hướng giảm thiểu sử dụng động vật thí nghiệm theo nguyên tắc 3Rs.

Kết quả kiểm tra tại các Labo kiểm định độc lập VABIOTECH đối với ngân hàng tế bào làm việc MRC5 WCB 0125 P31/ NICVB được đánh giá chất lượng theo các tiêu chí về: kiểm tra độ sống, hình thái tế bào, vô trùng, tính đồng nhất cho kết quả đạt yêu cầu theo hướng dẫn kỹ thuật của WHO số 978, 2013 và của Dược điển Châu Âu 10, Vol 1 [1,4].

Một trong những tiêu chí quan trọng nhất quyết định chất lượng ngân hàng tế bào là khả năng phục hồi và độ sống của tế bào sau quá trình cất giữ nitrogen lỏng -196^{o}C. Kết quả nghiên cứu cho thấy độ sống của tế bào đạt mức cao, trung bình 1,07 x 10^{6} tế bào/ống/ml tại NICVB sau sản xuất và 0,97x 10^{6} tế bào /ống/ml tại VABIOTECH (3 tháng sau sản xuất), đạt yêu cầu về độ sống với tỷ lệ sống lớn hơn 80%[1]. Hình thái nguyên bào sợi đặc trưng của MRC5 được duy trì ổn định sau rã đông từ nitrogen lỏng. Điều này chứng tỏ quy trình thu hoạch, sử dụng chất bảo quản lạnh và kỹ thuật hạ nhiệt độ từng bước trước khi lưu trữ trong nitrogen lỏng đã được tối ưu hóa tốt, giúp bảo vệ cấu trúc màng và chức năng sinh lý của tế bào.

Bên cạnh độ sống, tính đồng nhất giữa các ống trong cùng một lô sản xuất là yếu tối tiên quyết để đảm bảo tính lặp lại của các thử nghiệm kiểm định sau này. Bằng cách lấy mẫu đại diện ở cả 3 thời điểm đầu – giữa – cuối quy trình đóng ống, mật độ tế bào đều dao động chặt chẽ trong khoảng ±2SD tại cả 2 đơn vị độc lập. Kết quả này không chỉ đáp ứng tiêu chuẩn của WHO mà còn phản ánh kỹ thuật đóng ống được kiểm soát tốt, duy trì được hỗn dịch tế bào đồng nhất trong suốt quá trình thao tác.

Về mặt an toàn sinh học, toàn bộ các chỉ tiêu vô trùng về vi khuẩn, nấm, vi khuẩn lao, Mycoplasma và tác nhân ngoại lai in vitro đều cho kết quả âm tính. Việc kiểm tra tác nhân ngoại lại được thực hiện trên 3 dòng tế bào nhạy cảm (Vero, RK13, MRC5) không xuất hiện hiệu ứng CPE hay hiện tượng hấp phụ hồng cầu. Kết quả này khẳng định môi trường nuôi cấy, vật tư và điều kiện phòng sạch trong quá trình thiết lập ngân hàng tế bào tại NICVB được kiểm soát tốt. Điểm đáng chú ý trong thiết kế nghiên cứu là việc quyết định không thực hiện thử nghiệm tác nhân ngoại lai in vivo trên động vật. Điều này không chỉ dựa trên cơ sở kiểm soát chặt chẽ nguyên liệu đầu vào (đều có CoA đạt chuẩn) mà còn cập nhật và tuân thủ nguyên tắc 3Rs (Replacement, Reduction,

Refinement) theo các hướng dẫn mới nhất của WHO, ICH và EP về xu hướng giảm thiểu và thay thế động vật trong thử nghiệm sinh học, đánh dấu sự hội nhập với các chuẩn mực đạo đức khoa học quốc tế.

Về tuổi thọ hữu hạn của dòng tế bào lưỡng bội người (thường bắt đầu lão hóa sau 40-45 lần cấy truyền thế hệ - PDL), ngân hàng MRC5 WCB 0125 được thiết lập ở thế hệ P31 là phù hợp. Ở thế hệ này, tế bào vẫn giữ được sự tăng trưởng mạnh mẽ và có thể tiếp tục cấy truyền tối đa 10-13 lần nữa trước khi chạm ngưỡng lão hóa. Với số lượng 224 ống được lưu trữ, ngân hàng này hoàn toàn có khả năng cung ứng ổn định cho công tác kiểm định các loại vắc xin như Varivax, Varilrix, vắc xin thủy đậu khác cũng như nghiên cứu khoa học liên quan đến vi rút học tại Việt Nam trong vòng 5 năm tới.

5. Kết luận

Ngân hàng tế bào MRC5 WCB 0125 P31/ NICVB đạt yêu cầu chất lượng tham khảo theo tiêu chuẩn của WHO, Dược điển Châu Âu và Dược điển Việt Nam, phù hợp để đưa vào sử dụng trong kiểm định chất lượng vắc xin Varivax, Varilrix, Varicella và kiểm định ngân hàng chủng, ngân hàng tế bào, cũng như sử dụng trong nghiên cứu khoa học khoảng 5 năm tới trong điều kiện bảo quản ni tơ lỏng.

Tài liệu tham khảo

[1] World Health Organization. *Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks*. Geneva: World Health Organization; 2013. WHO Technical Report Series, No. 978, Annex 3.

[2] World Health Organization. *Recommendations for the preparation, characterization and establishment of international and other biological reference standards*. Geneva: World Health Organization; 2006. WHO Technical Report Series, No. 932.

[3] World Health Organization. *Manual for the establishment of National and other secondary standards for vaccines*. Geneva: World Health Organization; 2011.

[4] Council of Europe, European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). *Cell substrates for production of vaccines for human use*. In: *European Pharmacopoeia*. 10th ed. Strasbourg: Council of Europe; 2020. p. 650–654.

[5] Hội đồng Dược điển Việt Nam. *Phụ lục 15.7: Kiểm tra vô trùng vắc xin/sinh phẩm*. Trong: *Dược điển Việt Nam VI*. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học; 2025. tr. 465–467.

[6] Hội đồng Dược điển Việt Nam. *Phụ lục 15.47: Kiểm tra Mycoplasma trong vắc xin/sinh phẩm*. Trong: *Dược điển Việt Nam VI*. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học; 2025. tr. 508–510.

[7] Jean A, Tardy F, Allatif O, Grosjean I, Blanquier B, Gerlier D. *Assessing mycoplasma contamination of cell cultures by qPCR using a set of universal primer pairs targeting a 1.5 kb fragment of 16S rRNA genes*. *PLoS One*. 2017;12(2):e0172358.

[8] Frydenberg J, Christiansen C. *The sequence of 16S rRNA from mycoplasma strain PG50*. *DNA*. 1985;4(2):127–137.

[9] Flehmig B, Heinricy U, Pfisterer M. *Prospects for a Hepatitis A Virus Vaccine*. *Prog Med Virol*. 1990;37:56–71.

[10] DeStefano F, Fisher A. *Vaccine safety*. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, Edwards KM, editors. *Plotkin's Vaccines*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2018. p. 82.

[11] Jacobs JP, Jones CM, Baille JP. *Characteristics of a human diploid cell designated MRC-5*. *Nature*. 1970;227(5254):168–170.

[12] Jacobs JP. *The status of human diploid cell strain MRC5 as an approved substrate for the production of viral vaccines*. *J Biol Stand*. 1976;4(2):97–99.

[13] Stapleton JT, Lemon SM. *New vaccines against hepatitis A*. In: *New Generation Vaccines*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, Inc.; 1997. p. 571–586.