

EVALUATION OF THE STABILITY OF NATIONAL STANDARDS FOR THE INACTIVATED POLIO VACCINE

Le Thi Hai Yen^{1*}, Dao Thi Thuy¹, Quach Thi Huyen Trang¹, Nguyen Kim Bach¹,
Nguyen Thi Kieu¹, Nguyen Thi Bich Hanh², Le Thu Nga², Nguyen Phuong Thao²,
Doan Huu Thien¹

¹National Institute for Control of Vaccine and Biologicals,

²Center for Research and Production Of Vaccines and Biologicals,

Received, June 15th

Accepted, July 18th

Abstract

Background/Purpose: A national standard for inactivated polio vaccine (IPV) was established for the quality assurance of vaccines. Based on the demand for vaccine quality management, the number of national standard vaccines must be in large quantities and the quality should be stable for a long time (10 years or more). Producing standard vaccines is divided into 2 main contents. The first is to establish and evaluate the national reference standards, the second is to evaluate the stability of the product. Therefore, determining the stability of the vaccine is extremely important and accounts for most of the work in establishing the national standard vaccine. NICVB has successfully established the prescribed number of standard IPV vaccines. In this study, we present the process of studying the stability of the standard IPV.

Methods: A lot of standard vaccines manufactured by POLYVAC were used to establish the standard for the national standard. ELISA analysis was used to evaluate the antigen content of the candidate standard and in the thermo-stability study with storage temperature and time following the guidelines of the World Health Organization (4°C, 25°C, 37°C for different time periods: 1 week, 2 weeks, and 4 weeks for type 1, 2, and 3. Data were analyzed by the Arrhenius equation to calculate the shelf life of standard IPV vaccines.

Results: The results show the national standard vaccine batch MCQG.IPV-01 with the number of 1500 vials met the requirements for thermal stability for all 3 serotypes 1, 2, 3, and the shelf life is up to 10 years.

Conclusion: The national standard IPV, after meeting research criteria, is put into use with the stability of standard type 1: 6,239 (95% CI: 5,326 - 7,151) DU/ml, type 2: 10,737 (95% CI: 9,504 - 11,970) DU/ml, type 3: 17,438 (95% CI: 15,365 - 19,511) DU/ml when stored at -70°C.

Keywords: National standard, national standard IPV; standard IPV, IPV.

* Corresponding author,
E-mail address: haiyenleth@gmail.com,
<https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i2.31>

ĐÁNH GIÁ TÍNH ỔN ĐỊNH VẮC XIN MẪU CHUẨN QUỐC GIA IPV

Lê Thị Hải Yến^{1*}, Đào Thị Thủy¹, Quách Thị Huyền Trang¹, Nguyễn Thị Kiều¹,
Nguyễn Thị Bích Hạnh², Lê Thu Nga², Nguyễn Phương Thảo², Nguyễn Thị Hòa¹,
Đoàn Hữu Thiện¹

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

²Trung tâm nghiên cứu sản xuất vắc xin và sinh phẩm y tế

Nhận ngày 15 tháng 6 năm 2022

Chấp nhận đăng ngày 18 tháng 7 năm 2022

Tóm tắt

Đặt vấn đề/ Mục tiêu: Vắc xin mẫu chuẩn quốc gia IPV được thiết lập nhằm phục vụ công tác kiểm định chất lượng vắc xin. Theo nhu cầu của kiểm định thì số lượng vắc xin phải nhiều và chất lượng ổn định để dùng trong khoảng thời gian dài (10 năm trở lên). Sản xuất vắc xin mẫu chuẩn chia làm 2 nội dung chính. Thứ nhất là thiết lập và đánh giá tiêu chuẩn, thứ hai là thiết lập và đánh giá tính ổn định. Vì thế việc xác định tính ổn định của vắc xin vô cùng quan trọng và chiếm phần lớn công việc trong việc thiết lập vắc xin mẫu chuẩn quốc gia. NICVB đã thiết lập thành công số lượng vắc xin mẫu chuẩn IPV theo qui định. Trong nghiên cứu này chúng tôi trình bày quá trình nghiên cứu tính ổn định của vắc xin mẫu chuẩn IPV.

Phương pháp: Sử dụng một lô vắc xin mẫu chuẩn đã đặt hàng sản xuất từ POLYVAC thiết lập tiêu chuẩn mẫu chuẩn, sử dụng phương pháp ELISA để đánh giá hàm lượng kháng nguyên của mẫu chuẩn, đồng thời sử dụng quy trình nghiên cứu tính ổn định nhiệt bao gồm qui trình về thời gian nhiệt độ theo hướng dẫn của tổ chức y tế thế giới 4°C, 25°C, 37°C theo các thời gian khác nhau: 1 tuần, 2 tuần, và 4 tuần đối với các týp 1,2,3. Số liệu được xử lý theo phương trình Arrhenius để tính hạn sử dụng của vắc xin mẫu chuẩn IPV.

Kết quả: Kết quả cho thấy lô vắc xin mẫu chuẩn quốc gia MCQG.IPV-01 với số lượng 1500 týp đạt yêu cầu về tính ổn định nhiệt theo thời gian cả 3 týp 1, 2, 3 và hạn sử dụng đến 10 năm.

Kết luận: Vắc xin mẫu chuẩn quốc gia IPV sau khi nghiên cứu đạt yêu cầu được đưa vào sử dụng có tính ổn định với tiêu chuẩn týp 1: 6,239 (95% CI: 5,326 – 7,151) DU/ml, týp 2: 10,737 (95% CI: 9,504 – 11,970) DU/ml, týp 3: 17,438 (95% CI: 15,365 – 19,511) DU/ml khi cất giữ ở -70°C

Từ khóa: Mẫu chuẩn; vắc xin mẫu chuẩn quốc gia IPV; mẫu chuẩn IPV, IPV

1. Đặt vấn đề

Dự án sản xuất mẫu chuẩn vắc xin IPV nằm trong dự án Quốc gia sản xuất 11 vắc

xin mẫu chuẩn. Vắc xin IPV được đặt hàng từ nhà sản xuất sản xuất với các tiêu chuẩn vô trùng, cảm quan, nhận dạng, công hiệu, thể tích đóng ống, pH. Lô vắc xin, vắc xin mẫu chuẩn được đặt hàng từ nhà sản xuất với số lượng 1500 lọ. Lô vắc xin này được đánh giá chất lượng từ nhà sản xuất và Viện kiểm

* Tác giả liên hệ.

E-mail address: haiyenleth@gmail.com,

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i2.31>.

định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế. Kết quả thu được như sau. Tiêu chí vô trùng: đạt, không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm, thể tích đóng ống: đạt, 0,62ml; cảm quan: đạt, dung dịch trong không màu, không có vật thể lạ. pH: đạt; nhận dạng: đạt, có chứa kháng nguyên bại liệt; công hiệu tít 1: 6,23 DU/ml, tít 2: 10,36 DU/ml, tít 3: 17,11 DU/ml. Các tiêu chí này xây dựng dựa theo tiêu chuẩn của dược điển Việt Nam 5, nhà sản xuất, tiêu chuẩn của tổ chức y tế thế giới. [1, 2] Sau khi đánh giá lô vắc xin đạt trở thành lô vắc xin mẫu chuẩn IPV quốc gia có mã số: MCQG.IPV.01.

Để thiết lập số lượng vắc xin ổn định sử dụng trong thời gian dài thì phải đánh giá tính ổn định. Tính ổn định của mẫu chuẩn được đánh giá qua tỉ lệ giảm công hiệu ở các nhiệt độ khác nhau. Nghiên cứu tính ổn định gồm có ổn định gồm có 2 loại. Loại thứ nhất là ổn định dài hạn. Kết quả cho chính xác nhưng thời gian nghiên cứu lâu, không có kết quả ngay ở giai đoạn đầu của nghiên cứu. Loại thứ hai là nghiên cứu lão hóa cấp tốc. Tức là nghiên cứu tính ổn định ở các dải nhiệt độ cao hơn nhiệt độ bảo quản khuyến cáo, còn gọi là nghiên cứu thúc đẩy nhiệt. Nghiên cứu này được thiết kế nhằm tăng nhanh tốc độ phân hủy vật lý hoặc hóa học của các thành phần trong VX để xác định tỷ lệ thay đổi các đặc tính của mẫu theo thời gian ở các nhiệt độ cao hơn nhiệt độ bảo quản thông thường. Kết quả nghiên cứu lão hóa cấp tốc có thể sử dụng để dự đoán hạn dùng của VX mẫu chuẩn.

Tính ổn định phải được xác định vì ba mục đích sau:

Ước lượng thời gian sử dụng trong điều kiện lưu trữ nhất định. Xác định điều

kiện vận chuyển thích hợp. Xác định thời gian giữ được công hiệu sau khi hồi chỉnh mẫu chuẩn. Hạn dùng của mẫu chuẩn được dự đoán dựa vào: Kinh nghiệm sử dụng mẫu chuẩn, nghiên cứu tính ổn định dài hạn ở các khoảng cách phù hợp của một sản phẩm cụ thể. Theo dõi giá trị công hiệu của mẫu chuẩn. Kiểm tra công hiệu mẫu chuẩn thường kỳ bằng chuẩn quốc tế.

Để dự đoán hạn dùng, cần phải làm nghiên cứu thúc đẩy nhiệt trên các mẫu bảo quản ở nhiều điều kiện khác nhau. Số liệu từ nghiên cứu này được xử lý bằng phương trình Arrhenius. Phương pháp này được dùng để ước lượng hạn dùng ở nhiệt độ lưu trữ và những nhiệt độ có thể gặp phải trong quá trình vận chuyển. Một số VX tuân theo quy luật Arrhenius trong dải nhiệt độ hẹp nên các nghiên cứu thúc đẩy nhiệt phải được thiết kế phù hợp để ước lượng mức độ giảm công hiệu theo nhiệt độ và thời gian bảo quản chính xác nhất. [3,4,5,6].

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng, thời gian, địa điểm nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: Lô vắc xin MCQG.IPV.01

Mẫu chuẩn quốc tế VX IPV lần thứ nhất, NIBSC, mã số 17/160, dạng đông băng, công hiệu 100 SDU tít 1; 100 SDU tít 2; 100 SDU tít 3

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 4/2020 đến tháng 4/2021

- Địa điểm nghiên cứu Khoa Kiểm định vắc xin vi rút, Khoa Mẫu chuẩn.

2.2. Vật liệu, hóa chất

Các hướng dẫn của WHO; World Health Organization (2011), *WHO manual for the establishment of national and other secondary standards for vaccines*. WHO/

IVB/11.03; World Health Organization (2006), Recommendation for preparation, characterization and establishment of international and other biological reference standards, WHO TRS 932, annex 2; Mẫu chuẩn quốc tế VX IPV lần thứ nhất, NIBSC, mã số 17/160, dạng đông băng, công hiệu 100 SDU týp 1; 100 SDU týp 2; 100 SDU týp 3; Chuẩn nội kiểm: (Purified poliovirus Reference 9-27-13); Kháng thể gắn phiến: týp 1 (13/218), NIBSC; Kháng thể gắn phiến: týp 2 (13/220), NIBSC; Kháng thể gắn phiến: týp 3 (13/222), NIBSC; Kháng thể bậc 2: týp 1 (234), NIBSC; Kháng thể bậc 2: týp 2 (1050), NIBSC; Kháng thể bậc 2: týp 3 (520), NIBSC; IgG (Anti-Mouse IgG (whole molecule)-Peroxidase antibody produced in sheep/Sigma-Aldrich/A6782);

Các hóa chất thương mại dùng cho ELISA.

2.3. Thực hiện

Bảng 1. Công hiệu của vắc xin ở các khoảng thời gian khác nhau tại 4°C, 25°C và 37°C so với mẫu xuất xưởng týp 1

Nhiệt độ \ Thời gian	-70°C	Du/ml 4°C	25°C	37°C
0	3			
1	ND*	6,242	5,970	5,975
2	ND	6,163	4,827	4,275
4	ND	6,366	2,422	0

Ghi chú: *ND: không thực hiện.

Bảng 1 cho thấy rõ sự giảm công hiệu týp 1 theo thời gian khi ủ vắc xin ở 4°C, 25°C và 37°C. Từ kết quả thu được ở bảng 1, Sử dụng phần mềm JMP Pro13 để xử lý số liệu, với tiêu chuẩn công hiệu ≥ 3 DU/ml. Sau 10 năm bảo quản ở -70°C, công hiệu

Kháng thể được gắn vào các giá thể trên phiến 96 giếng. Sau đó rửa phiến loại bỏ các kháng thể tự do, dùng hóa chất thích hợp là BSA hoặc Skill milk để phủ kín các lỗ trống trên giếng. Kháng nguyên được pha loãng để giảm bớt sự ức chế của tá được kết hợp với các kháng thể đặc hiệu tương ứng. Sau đó ủ để phản ứng kháng nguyên kháng thể xảy ra. Khi kháng nguyên kháng thể bắt cặp thì thêm kháng thể cộng hợp có cơ chất. Cuối cùng đo OD ở bước sóng thích hợp.

2.4. Cách đánh giá sự ổn định của vắc xin mẫu chuẩn IPV

Đánh giá tính ổn định nhiệt, dự đoán hạn dùng bằng phương pháp thúc đẩy nhiệt. 3 dải nhiệt độ được nghiên cứu là 4°C, 25°C, 37°C. Các thời gian nghiên cứu ứng với từng dải nhiệt độ là 1 tuần, 2 tuần, 4 tuần.

Phương pháp xác định: ELISA.

3. Kết quả

týp 1 của mẫu chuẩn quốc gia IPV mã số 0120 vẫn đảm bảo yêu cầu ≥ 3 DU/ml với công hiệu dự đoán 6,239 (95%CI: 5,326 – 7,151) DU/ml.

Bảng 2. Công hiệu của vắc xin ở các khoảng thời gian khác nhau tại 4°C, 25°C và 37°C týp 2

Thời gian	Nhiệt độ			
	-70°C	Du/ml 4°C	25°C	37°C
0	3			
1	ND*	10,384	10,670	10,385
2	ND	10,319	7,877	5,919
4	ND	10,103	5,677	0

Ghi chú: *ND: không thực hiện.

Bảng 2 cho thấy rõ sự giảm công hiệu theo thời gian khi ủ vắc xin ở 4°C, 25°C và 37°C. Từ kết quả thu được ở bảng 2, Sử dụng phần mềm JMP Pro13 để xử lý số liệu, với tiêu chuẩn công hiệu ≥ 3 DU/ml.

Sau 10 năm bảo quản ở -70°C, công hiệu týp 2 của mẫu chuẩn quốc gia IPV mã số 0120 vẫn đảm bảo yêu cầu ≥ 3 DU/ml với công hiệu dự đoán 10,737 (95%CI: 9,504 – 11,970) DU/ml.

Bảng 3. Công hiệu của vắc xin ở các khoảng thời gian khác nhau tại 4°C, 25°C và 37°C týp 3

Thời gian	Nhiệt độ			
	-70°C	Du/ml 4°C	25°C	37°C
0	12			
1	ND*	17,440	17,389	16,819
2	ND	17,031	12,300	10,718
4	ND	16,069	9,209	0

Ghi chú: *ND: không thực hiện.

Bảng 3 cho thấy rõ sự giảm công hiệu theo thời gian khi ủ vắc xin ở 4°C, 25°C và 37°C. Từ kết quả thu được ở bảng 4, Sử dụng phần mềm JMP Pro13 để xử lý số liệu, với tiêu chuẩn công hiệu ≥ 12 DU/ml. Sau 10 năm bảo quản ở -70°C, công hiệu týp 3 của mẫu chuẩn quốc gia IPV mã số 0120 vẫn đảm bảo yêu cầu ≥ 12 DU/ml với công hiệu dự đoán 17,438 (95%CI: 15,365 – 19,511) DU/ml.

Sau 10 năm bảo quản ở -70°C, công hiệu týp 1 của mẫu chuẩn quốc gia IPV mã số MCQG -IPV.01 vẫn đảm bảo yêu cầu ≥ 3 DU/ml với công hiệu dự đoán 6,239 (95%CI: 5,326 – 7,151) DU/ml. Công hiệu týp 2 của mẫu chuẩn quốc gia IPV đảm

bảo yêu cầu ≥ 3 DU/ml với công hiệu dự đoán 10,737 (95%CI: 9,504 – 11,970) DU/ml, công hiệu týp 3 của mẫu chuẩn quốc gia IPV đảm bảo yêu cầu ≥ 12 DU/ml với công hiệu dự đoán 17,438 (95%CI: 15,365 – 19,511) DU/ml. Như vậy hạn sử dụng của lô mẫu chuẩn MCQG - IPV.01 trên 10 năm

4. Bàn luận

Theo tiêu chuẩn mẫu chuẩn IPV do NICVB đưa ra, VX MCQG IPV được sản xuất dựa trên qui trình nghiên cứu phát triển sản phẩm bại liệt bất hoạt IPV, POLYVAC kết hợp cùng NICVB nghiên cứu sản xuất mẫu chuẩn quốc gia IPV. Số lượng sản xuất 1500 ống dùng để đánh giá chất lượng và sử dụng

làm mẫu chuẩn. Vắc xin IPV chứa týp 1, týp 2, týp 3 chủng Sabin. POLYVAC đã tự nghiên cứu và phát triển qui trình sản xuất IPV.

Việc đánh giá tính ổn định về công hiệu của vắc xin dự tuyển tại các nhiệt độ bảo quản mẫu khác nhau là rất cần thiết giúp đánh giá được mức độ ổn định về chất lượng của mẫu chuẩn khi bảo quản để trong các điều kiện nhiệt độ cao hơn [1, 3]. Vì trong quá trình bảo quản, sử dụng vắc xin mẫu chuẩn sẽ khó tránh khỏi các rủi ro ngoài ý muốn như: mất điện, vận chuyển đường xa trong các điều kiện nhiệt độ cao hơn nhiệt độ bảo quản -70°C .

Công hiệu vắc xin mẫu chuẩn phải cao để thỏa mãn các yêu cầu ổn định trong thời gian dài trong ít nhất từ 5 đến 10 năm nên hiệu giá của vắc xin phải cao hơn mức tối thiểu.

Ngoài các tiêu chuẩn định tính và định lượng, NICVB cũng đưa ra thêm tiêu chuẩn về hạn sử dụng trên 10 năm. Theo số liệu thu được trong nghiên cứu này, lô vắc xin mẫu chuẩn quốc gia IPV ổn định sau 10 năm. NICVB đưa ra tiêu chuẩn trên căn cứ vào đặc tính của vắc xin IPV. Vắc xin dung dịch thường có độ bền không bằng các loại vắc xin đông khô, dễ ảnh hưởng bởi tác động của nhiệt độ. Để xây dựng được một lô mẫu chuẩn quốc gia tốn kém rất nhiều sức người, sức của, trải qua rất nhiều công đoạn khác nhau nên hạn sử dụng của vắc xin mẫu chuẩn quốc gia dài thực sự cần thiết để tiết kiệm thời gian, tài chính.

Nhiệt độ bảo quản VX mẫu chuẩn cũng đóng vai trò quan trọng để duy trì được công hiệu trong thời gian dài. Chúng tôi lựa chọn bảo quản VX mẫu chuẩn IPV sau sản xuất ở -70°C , không lựa chọn bảo quản ở nhiệt độ cao hơn nhằm duy trì tính ổn định và hạn dùng cho vắc xin mẫu chuẩn

Vắc xin IPV không bền với nhiệt độ, tốc độ phân hủy cao, ở 37°C tốc độ phân hủy ở các týp sau 1 tuần giảm khoảng 30 % nhưng sau 2 tuần tốc độ phân hủy đến 50%.

Trong nghiên cứu này chúng tôi lựa chọn các nhiệt độ 4°C , 25°C và 37°C để đánh giá công hiệu của VX dựa theo các hướng dẫn của WHO.

Kết quả thu được sau khi nghiên cứu tính ổn định nhiệt xử lý bằng phần mềm JMP Pro13, phần mềm chuyên dụng để dự đoán hạn dùng bằng phương pháp thúc đẩy nhiệt.

Chúng tôi sử dụng phần mềm JMP Pro13, phần mềm xây dựng trên phương trình Arrhenius, để xử lý số liệu nghiên cứu tính ổn định nhiệt. Phương trình Arrhenius cũng được WHO khuyến cáo dùng cho xử lý số liệu dự đoán hạn dùng. Nghiên cứu trước đây của Việt Nam dùng forecast của Excel để xử lý số liệu.

Sau 10 năm bảo quản ở -70°C , công hiệu týp 1 của mẫu chuẩn quốc gia IPV mã số MCQG -IPV.01 vẫn đảm bảo yêu cầu ≥ 3 DU/ml với công hiệu dự đoán 6,239 (95%CI: 5,326 – 7,151) DU/ml. Công hiệu týp 2 của mẫu chuẩn quốc gia IPV đảm bảo yêu cầu ≥ 3 DU/ml với công hiệu dự đoán 10,737 (95%CI: 9,504 – 11,970) DU/ml, công hiệu týp 3 của mẫu chuẩn quốc gia IPV đảm bảo yêu cầu ≥ 12 DU/ml với công hiệu dự đoán 17,438 (95%CI: 15,365 – 19,511) DU/ml.

Kết quả dự đoán hạn dùng của MCQG vắc xin IPV cho thấy VXMC quốc gia IPV ổn định ở nhiệt độ bảo quản $\leq -70^{\circ}\text{C}$.

5. Kết luận

Vắc xin mẫu chuẩn quốc gia loại MCQG.IPV.01 sau khi đánh giá có tính đồng

nhất và độ ổn định cao, đạt yêu cầu về chất lượng đối với vắc xin mẫu chuẩn quốc gia theo yêu cầu của Tổ chức Y tế Thế giới. Vắc xin bảo quản ở -70°C có hạn dùng dự đoán trên 10 năm; Vắc xin ổn định ở $2-8^{\circ}\text{C}$ ít nhất trong 4 tuần vẫn đạt kết quả tít 1 6,366 DU/ml, tít 2 10,103 DU/ml, tít 3 16,069 DU/ml, ở 25°C ổn định tối đa trong 2 tuần đạt kết quả tít 1 4,827 DU/ml, tít 2 7,877 DU/ml, tít 3 12,3 DU/ml, và ở 37°C ổn định tối đa trong 1 tuần đạt kết quả tít 1 5,975 DU/ml, tít 2 10,385 DU/ml, tít 3 16,819 DU/ml.

References

1. Dược điển Việt Nam V, 2017: 293
2. World Health Organization, Recommendations to assure the quality, safety, and efficacy of poliomyelitis vaccines (inactivated), 2019, WHO-TRS 993, Annex 3.
3. Cawt L, Atkinson E, Tedcastle A, et al. Differences in Antigenic Structure of Inactivated Polio Vaccines Made From Sabin Live-Attenuated and Wild-Type Poliovirus Strains: Impact on Vaccine Potency Assays. *J Infect Dis.* Feb 3 2020;221(4):544-552.
4. World Health Organization, WHO manual for the establishment of national and other secondary standards for vaccines, 2011, WHO/IVB/11.03.
5. World Health Organization; Guidelines on the stability evaluation of vaccines for use under extended controlled temperature conditions, ECBS Expert Committee on Biological Standardization, Geneva, 12 to 16 October 2015.
6. World Health Organization, Guidelines on the stability evaluation of vaccines for use under extended controlled temperature conditions, 2016, WHO Technical Report Series No. 999, annex 5, WHO Geneva.