

RESEARCH ON ESTABLISHING AND EVALUATING THE QUALITY OF CELL RK13 USED IN TESTING VACCINES AND BIOLOGICAL

Nguyen Thi Van Quynh^{1*}, Trieu Thanh Hai¹, Doan Huu Thien¹,
Pham Van Hung¹, Nguyen Thi Mai Huong¹

¹ National Institute for Control of Vaccine and Biologicals

Received on May 27th

Accepted on July 5th

Abstract

Background/Purpose: Research on the development of the Master Cell Bank (MCB) and Working Cell Bank (WCB) and evaluated the quality of the bank RK13 cell line from the RK13 International Reference cell line (ATCCRCCL-37TM).

Methods: Empirical description research invitro

Results: Research results have established the MCB banks include (252 tubes encoded NICVB/MCB01-21 with a concentration of 2.25×10^6 /tube) and the WCB bank includes (356 tubes encoded NICVB/WCB01-21 with a concentration of 1.67×10^6 /tube) which meets the quality of specifications as requirement criteria Sterility; Mycoplasma; homogeneity; no foreign agents contamination; and viability according to the WHO's standards.

Conclusion: From the research results, it is possible to use the RK13 MCB and WCB cell banks in the quality control of vaccines and medical-biological products at NICVB and manufacturers' testing laboratories.

Keywords: *Bank of cell line RK13, MCB; WCB.*

* Corresponding author
E-mail address: vanquynhmttn@nicvb.org.vn
<https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i2.34>

NGHIÊN CỨU THIẾT LẬP VÀ ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG NGÂN HÀNG TẾ BÀO RK13 DÙNG TRONG KIỂM ĐỊNH VẮC XIN VÀ SINH PHẨM Y TẾ

Nguyễn Thị Vân Quỳnh^{1*}, Triệu Thanh Hải¹, Đoàn Hữu Thiện¹,
Phạm Văn Hùng¹, Nguyễn Thị Mai Hương¹

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

Nhận ngày 27 tháng 5 năm 2022

Chấp nhận đăng ngày 7 tháng 7 năm 2022

Tóm tắt

Đặt vấn đề/ Mục tiêu: Nghiên cứu thiết lập ngân hàng tế bào gốc giống Master Cell Bank (MCB) và ngân hàng tế bào làm việc Working Cell Bank (WCB) và đánh giá chất lượng ngân hàng tế bào RK13 chuẩn từ dòng tế bào RK13 chuẩn quốc tế (ATCCRCCL-37TM).

Phương pháp: Nghiên cứu mô tả thực nghiệm invitro.

Kết quả: Kết quả nghiên cứu đã thiết lập được ngân hàng tế bào gốc giống MCB số lượng (252 ống mã hóa NICVB/MCB01-21 với nồng độ $2,25 \times 10^6$ / ống) và ngân hàng tế bào làm việc WCB số lượng (356 ống mã hóa NICVB/WCB01-21 với nồng độ $1,67 \times 10^6$ / ống) đạt yêu cầu chất lượng về vô trùng, Mycoplasma, tính đồng nhất các ống, không nhiễm tác nhân ngoại lai và độ sống theo tiêu chuẩn Tổ chức Y tế Thế giới (WHO).

Kết luận: Từ các kết quả nghiên cứu cho thấy có thể sử dụng ngân hàng tế bào RK13 MCB và WCB trong kiểm định chất lượng vắc xin và sinh phẩm y tế tại NICVB và các labo kiểm định nhà sản xuất.

Từ khóa: Ngân hàng tế bào RK13; MCB; WCB.

1. Đặt vấn đề

Trong sản xuất và kiểm định chất lượng vắc xin, sinh phẩm việc sử dụng các chất chuẩn là một trong những yếu tố quyết định chất lượng sản phẩm. RK13 là một trong những dòng tế bào được sử dụng với tần xuất cao để kiểm định chất lượng vắc xin và sinh phẩm y tế như vắc xin Rubella, Sởi-Rubella (MR), và Sởi-Quai bị-Rubella (MMR)...thực tế, hiện nay tại cơ quan kiểm định quốc gia NIVB và nhà sản xuất

đang sử dụng dòng tế bào khác nhau, không đồng nhất và nguồn gốc khác nhau. Do vậy yêu cầu đặt ra cấp bách là NICVB cần là đầu mối thiết lập ngân hàng mẫu chuẩn RK13 từ dòng tế bào RK13 chuẩn quốc tế (RK13 ATCCRCCL-37TM) để có thể quản lý, phân phối và sử dụng trên toàn hệ thống Labo kiểm định tại NICVB và các cơ sở nghiên cứu và sản xuất vắc xin và sinh phẩm trong nước. Xuất phát từ thực tế trên chúng tôi tiến hành nghiên cứu thiết lập ngân hàng tế bào RK13 với mục tiêu:

1) Sản xuất hệ thống ngân hàng tế bào chuẩn RK13 MCB số lượng 250 ống và WCB số lượng 350 ống.

* Tác giả liên hệ:

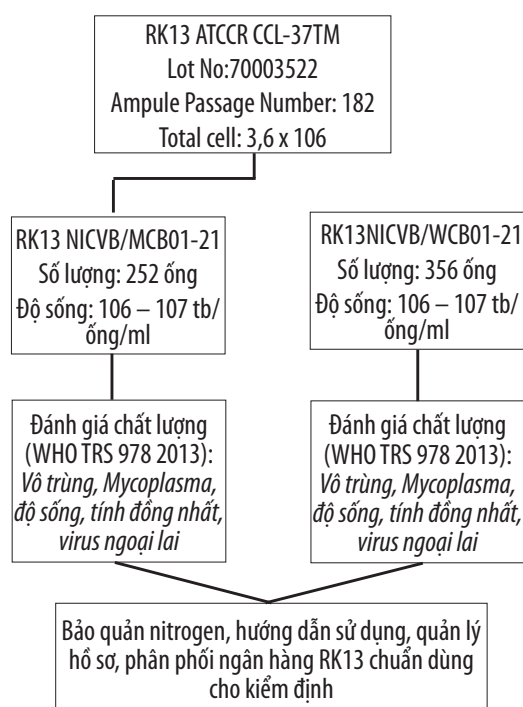
E-mail address: vanquynhmttn@nicvb.org.vn

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i2.34>

2) Đánh giá chất lượng ngân hàng tế bào (MCB và WCB) RK13 về vô trùng, Mycoplasma, độ sống, tính đồng nhất các ống, tác nhân vi rút ngoại lai trên tế bào.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Thiết kế nghiên cứu



Hình 1. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu thiết lập và đánh giá chất lượng ngân hàng tế bào RK13 MCB và WCB

Nội dung 1: Sản xuất ngân hàng tế bào RK13 (MCB và WCB)

Từ một ống tế bào chuẩn quốc tế ban đầu do ATCC cung cấp (tế bào RK13 ATCC^R CCL-37TM) tiến hành nuôi cấy sản xuất ngân hàng tế bào giống gốc (MCB) đạt tiêu chuẩn với nồng độ 10^6 - 10^7 tb/ml/ống. Từ nguyên liệu tế bào RK13 MCB tiến hành nuôi cấy sản xuất ngân hàng tế bào làm việc (WCB) với nồng độ 10^6 - 10^7 tb/ml/ống [5].

Nội dung 2: Đánh giá chất lượng ngân hàng tế bào RK13 (MCB và WCB)

Đánh giá chất lượng ngân hàng tế bào theo tiêu chuẩn của WHO (WHO TRS 978, phần 3, năm 2013) bao gồm: Kiểm tra vô trùng [1]; Mycoplasma [2]; Kiểm tra tác nhân vi rút ngoại lai, độ sống và tính đồng nhất giữa các ống tế bào [5].

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm: Nghiên cứu được thực hiện tại Khoa Môi trường thực nghiệm (MTTN), Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 06/2020 đến tháng 01/2022

2.3. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: Ngân hàng tế bào giống gốc (RK13 NICVB/MCB01-21) và ngân hàng tế bào làm việc (RK13 NICVB/WCB01-21).

2.4. Nguyên liệu và trang thiết bị phục vụ nghiên cứu

Trang thiết bị, dụng cụ

Hôt Bio II A Advance 4, Telstar; Tủ ẩm (36 ± 1)°C, có CO₂; Tủ ẩm 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; Bề ổn nhiệt; Máy đo pH Theromo; Cân phân tích; Kính hiển vi huỳnh quang EVOOS 5000.

Vật liệu, hóa chất, môi trường, mẫu chuẩn

Mẫu chuẩn:

Tế bào RK13 chuẩn quốc tế ATCC (ATCC^R CCL-37TM) có nguồn gốc ATCC: 01 ống.

Tế bào lưỡng bội phổi người MRC5 (P25), ATCC CCL-171: 02 ống.

Tế bào thận thỏ RK13 (P174) ATCC^R CCL-37: 02 ống.

Tế bào thận khỉ xanh Châu Phi Vero (P30) ATCC CCL-81: 02 ống

DNA chủng *Mycoplasma pneumoniae* ATCC 29342: 01 ống 10 μ l.

Môi trường, hóa chất: Môi trường MEM, DMEM, Huyết thanh bào thai bê (FBS), PBS 1X, Dung dịch Trypsin, Fungizon, Kanamycin, NaHCO₃ 7,5%, L- glutamine, TSA, PPLO, bộ kit nhuộm Mycoflour.

Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả thực nghiệm invitro bao gồm Kỹ thuật nuôi cấy tế bào; Kỹ thuật đếm tế bào; Kỹ thuật cất giữ tế bào; Kỹ thuật kiểm tra vô trùng [1]; Kỹ thuật kiểm tra virus ngoại lai trên tế bào [3]; Kỹ thuật kiểm tra Mycoplasma bằng phương pháp cấy trực tiếp và phương pháp chỉ thị tế bào [2].

Phân tích và xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm micosoft Excel tổng hợp và phân tích số liệu kết quả. Tính

giá trị $\pm 2SD$ phân tính 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

3.1. Sản xuất ngân hàng tế bào chuẩn RK13 NICVB/MCB01-21 và RK13 NICVB/WCB01-21 từ dòng tế bào RK13 chuẩn quốc tế.

Từ ống tế bào gốc chuẩn quốc tế do ATCC cung cấp là RK13 ATCC[®]CCL-37, đòi cấy chuyển 181 sau 4 lần nuôi cấy sản xuất lô tế bào giống gốc RK13 MCB/NICVB-0121 số lượng 252 ống, mỗi ống chứa 2,25 x10⁶ tế bào/ml.

Từ tế bào MCB được nuôi cấy, cấy chuyển 4 lần để sản xuất ngân hàng tế bào làm việc RK13 NICVB/WCB01-21 là ngân hàng tế bào RK13 làm việc, số lượng 356 ống, mỗi ống chứa 1,67 x10⁶ tế bào như hình 2 và 3.



Hình 2: Ngân hàng tế bào RK13 NICVB/MCB 01-21



Hình 3: Ngân hàng tế bào RK13 NICVB/WCB 01-21

3.2. Kết quả đánh giá chất lượng ngân hàng tế bào chuẩn RK13 NICVB/MCB01-21 và RK13 NICVB/WCB01-21

Để kiểm soát chất lượng ngân hàng tế bào RK13 NICVB/MCB 01-21 và RK13

NICVB/WCB 01-21 được thiết lập tại NICVB, chúng tôi đánh giá các tiêu chí về vô trùng, độ sống, *Mycoplasma*, tính đồng nhất, kiểm tra tác nhân ngoại lai trên các dòng tế bào. Kết quả cụ thể từng thử nghiệm như sau:

3.1.1. Kết quả kiểm tra vô trùng

Ngân hàng tế bào RK13 NICVB/MCB

01-21 và RK13 NICVB/WCB 01-21 được kiểm tra vô trùng bằng phương pháp nuôi cấy trực tiếp [1]

Bảng 1: Kết quả kiểm tra vô trùng ngân hàng RK13

STT	Mẫu thử	Tiêu chuẩn	Kết quả
1	RK13 NICVB/MCB01-21	Không phát hiện vi khuẩn và nấm sau 14 ngày	Đạt
2	RK13 NICVB/WCB01-21	Không phát hiện vi khuẩn và nấm sau 14 ngày	Đạt

Kết quả cho thấy ngân hàng bào đạt yêu cầu về vô trùng sau khi đóng ống và bảo quản ở bình nitrogen -196°C theo tiêu chuẩn WHO và Dược điển Việt Nam V.

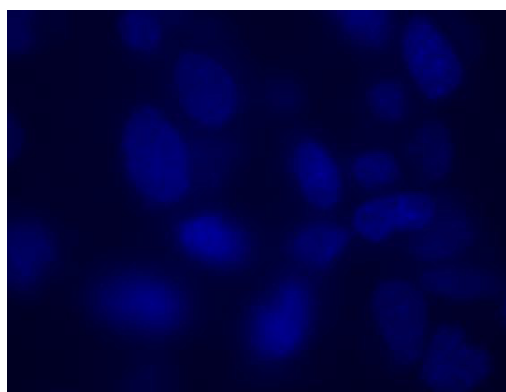
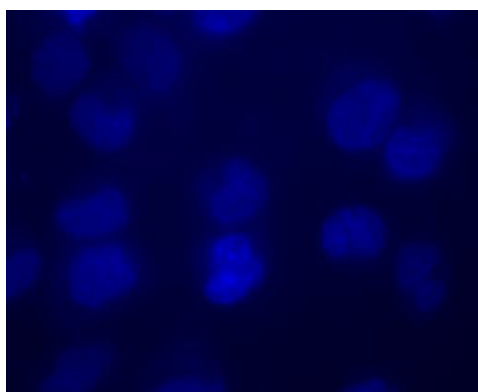
3.1.2. Kết quả kiểm tra Mycoplasma

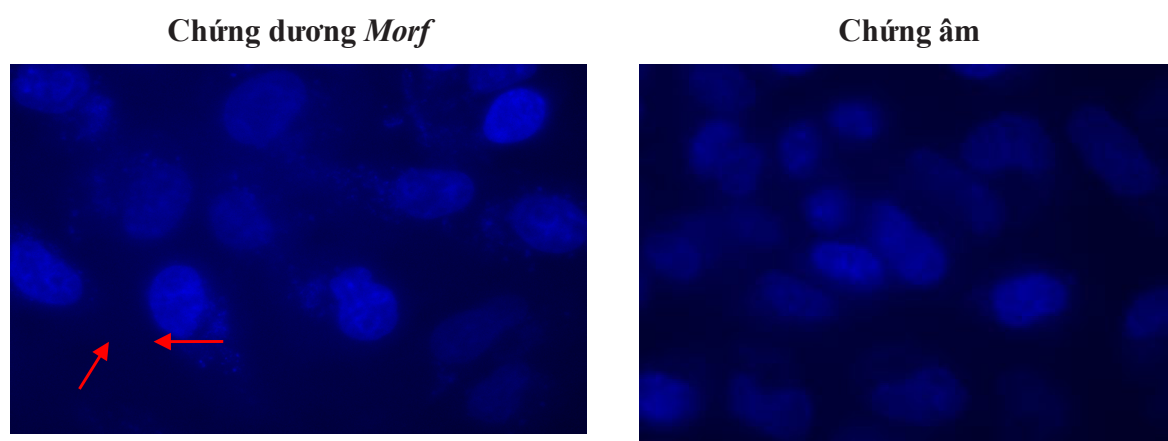
Ngân hàng tế bào RK13 NICVB/

MCB01-21 và RK13 NICVB/WCB01-21 được tiến hành kiểm tra Mycoplasma đặc hiệu bằng phương pháp nuôi cấy trực tiếp và phương pháp chỉ thị tế bào nhuộm huỳnh quang sử dụng bộ kit MycoFlour™[2].

*** Phương pháp nuôi cấy trực tiếp****Bảng 2: Kết quả kiểm tra Mycoplasma bằng phương pháp nuôi cấy trực tiếp**

STT	Mẫu thử	Phương pháp	Tiêu chuẩn	Kết quả
1	RK13 NICVB/MCB 01-21	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 lỏng sau 28 ngày nuôi cấy
2	RK 13 NICVB/WCB 01-21			

*** Phương pháp chỉ thị tế bào****RK 13 NICVB/ MCB01-21****RK13 NICVB/WCB01-21**



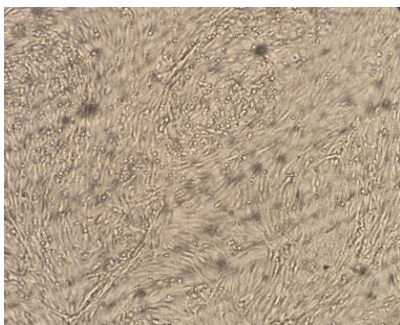
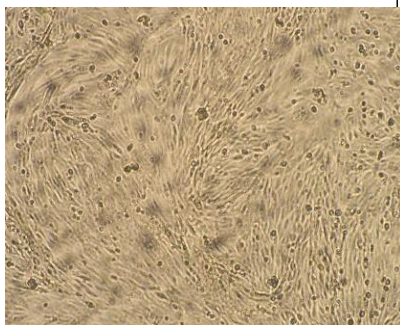
Hình 4: Kết quả kiểm tra Mycoplasma bằng phương pháp chỉ thị tế bào nhuộm huỳnh quang

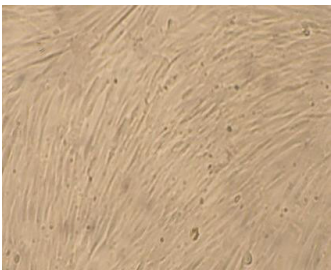
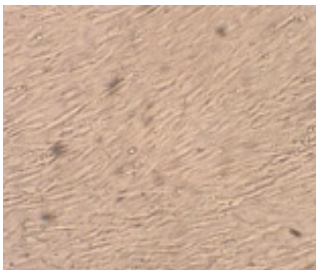
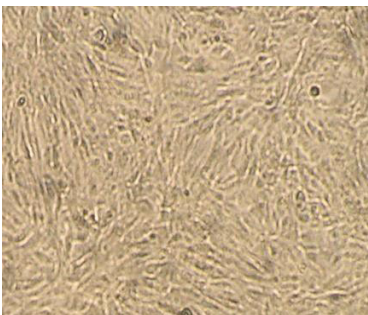
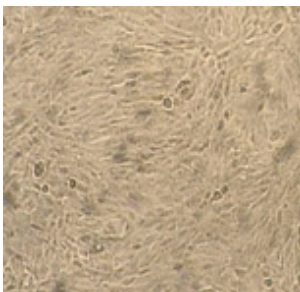
Từ kết quả trên cho thấy mẫu ngân hàng tế bào RK13 NICVB/MCB01-21 và NICVB/WCB01-21 không phát hiện sự có mặt của *Mycoplasma* trong các ống tế bào, **đạt yêu cầu chất lượng đối với kiểm tra *Mycoplasma*.**

3.1.3. Kết quả kiểm tra tác nhân ngoại lai trên tế bào

Kiểm tra tác nhân ngoại lai ngân hàng tế bào RK13 NICVB/MCB01-21 và NICVB/WCB01-21 trên in vitro trên 3 dòng tế bào: Vero ATCC CCL-81; RK13 ATCC^RCCL-37 khác loạt, và MRC5 ATCC CCL-171, gây nhiễm và theo dõi kết quả trong 14 ngày.

Bảng 3: Kết quả kiểm tra tác nhân ngoại lai trên tế bào

Thử nghiệm	Tế bào	Kết quả/mẫu	
		NICVB/MCB 01-21	NICVB/WCB01-21
Không có CPE và virus gây hấp phụ hồng cầu	RK13		
		Không có hủy hoại tế bào trong các chai tế bào RK 13 gây nhiễm sau 14 ngày theo dõi. Không có vi rút hấp phụ hồng cầu trong mẫu thử.	

Thử nghiệm	Tế bào	Kết quả/mẫu	
		NICVB/MCB 01-21	NICVB/WCB01-21
	MRC5		
		Không có hủy hoại tế bào trong các chai tế bào MRC5 gây nhiễm sau 14 ngày theo dõi. Không có vi rút hấp phụ hồng cầu trong mẫu thử.	
	Vero ATCC CCL-81		
		Không có hủy hoại tế bào trong các chai tế bào Vero gây nhiễm sau 14 ngày theo dõi. Không có vi rút hấp phụ hồng cầu trong mẫu thử.	

Kết quả cho thấy cả 2 mẫu tế bào RK13 với cả 3 dòng tế bào sử dụng. Ngân hàng tế bào RK13 đạt yêu cầu về tác nhân ngoại lai theo tiêu chuẩn của WHO TRS 978 phần 3, và không hấp phụ hồng cầu chuột lang đối 2013 và Dược điển châu Âu 10, vol.1.

3.1.4. Kết quả kiểm tra độ sống

Bảng 4: Kết quả kiểm tra độ sống trên tế bào (8)

STT	Mẫu thử	Phương pháp	Tiêu chuẩn	Kết quả trung bình 6 lần TN
1	RK13 NICVB/MCB 01-21	Đếm số tế bào sống và nuôi cấy tế bào	$\geq 80\%$ tb khi cất giữ ($\geq 1,8 \times 10^6/\text{ml}/\text{ống}$)	$2,10 \times 10^6/\text{ml}$
2	RK13 NICVB/WCB 01-21		$\geq 80\%$ tb khi cất giữ ($\geq 1,34 \times 10^6/\text{ml}/\text{ống}$)	$1,60 \times 10^6/\text{ml}$

Kết quả nuôi cấy tế bào cho thấy hình thái là hình thoi đặc trưng của tế bào RK13 và độ sống ngân hàng tế bào RK13 NICVB/MCB01-21 và RK13 NICVB/WCB01-21 tương ứng là $2,10 \times 10^6/\text{ml}/\text{ống}$ tế bào và $1,60 \times 10^6/\text{ml}/\text{ống}$ tế bào đạt tiêu chuẩn WHO TRS 978, phần 3, 2013 và Dược điển Châu Âu 10, Vol 1.

3.1.5. *Kết quả kiểm tra tính đồng nhất giữa các ống tế bào* ống tế bào tại các thời điểm đầu - giữa - cuối giai đoạn sản xuất đóng ống. Tại mỗi

Thử nghiệm kiểm tra tính đồng nhất thời điểm thử nghiệm lặp lại 6 lần tương đương 6 ống tế bào lấy ngẫu nhiên.

Bảng 5: Kết quả kiểm tra tính đồng nhất của ngân hàng RK13 NICVB/MCB01-21

Mẫu	Lần kiểm tra		Tiêu chuẩn (10 ⁶ /ml)	Kết quả (10 ⁶ /ml)
RK13 NICVB/MCB01-21	Đầu qui trình	1	Số lượng tế bào nằm trong khoảng ± 2SD (1,93 -2,39)	2,25
		2		2,20
		3		1,95
	Giữa qui trình	1		2,20
		2		2,20
		3		2,00
	Cuối qui trình	1		2,10
		2		2,20
		3		2,30
Xtb			2,16	

Bảng 6: Kết quả kiểm tra tính đồng nhất của ngân hàng RK13 NICVB/WCB01-21

Mẫu	Lần kiểm tra		Tiêu chuẩn (10 ⁶ /ml)	Kết quả (10 ⁶ /ml)
RK13 NICVB/WCB01-21	Đầu qui trình	1	Số lượng tế bào nằm trong khoảng ± 2SD (1,47 -1,87)	1,57
		2		1,75
		3		1,65
	Giữa qui trình	1		1,85
		2		1,68
		3		1,56
	Cuối qui trình	1		1,56
		2		1,66
		3		1,75
Xtb			1,67	

Kết quả cho thấy ngân hàng tế bào RK13 NICVB/MCB01-21 và RK13 NICVB/WCB01-21 đạt yêu cầu về tính đồng nhất theo tiêu chuẩn WHO TRS 978, phần 3, 2013 và Dược điển Châu Âu 10, Vol 1.

4. Bàn luận

4.1. Sản xuất ngân hàng chuẩn RK13 NICVB/ MCB 01-21 và NICVB/ WCB 01-21

Tế bào RK13 giống gốc là tế bào thuộc tế bào chuẩn quốc tế Mỹ ATCC p181, có nguồn gốc, đặc tính nuôi cấy và kết quả kiểm tra chất lượng CoA. Từ 1 ống tế bào chuẩn RK13 ban đầu, tiến hành lựa chọn điều kiện nuôi cấy tối ưu, môi trường dinh dưỡng, đặc tính phát triển và tỷ lệ nuôi cấy ở lần đầu tiên khá quan trọng và góp phần thành công trong việc sản xuất ngân hàng tế bào RK13 MCB và WCB.

Chai nuôi cấy tế bào 1 lớp thường được sử dụng trong kiểm định tại NICVB. Hiện nay có nhiều biện pháp tiên tiến để tăng bề mặt bám dính cho tế bào, trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng chai 2 tầng (Cell factory) giúp tăng số lượng tế bào lên nhiều lần, nhằm đạt được số lượng lớn tế bào ngân hàng mẫu chuẩn RK13 theo dự kiến đề ra.

Số lượng tế bào sản xuất được: MCB (252 ống) và WCB (356 ống) có thể sử dụng trong vòng 5-10 năm. Mỗi ống tế bào chứa $2,25 \times 10^6$ tế bào MCB và $1,67 \times 10^6$ tế bào WCB, với hàm lượng này tương đương với 1 ống tế bào chuẩn ATCCRCCL-37TM chuẩn quốc tế và đủ cho 01 lần nhân nuôi tế bào dùng trong kiểm định công hiệu vắc xin, sinh phẩm. Các ống tế bào kèm thông tin trên nhãn, được cất giữ trong bình nitrogen lỏng -196°C, lưu trữ tại 2 nơi khác nhau để giảm thiểu rủi ro [4], [5].

4.2. Chất lượng của ngân hàng tế bào RK13 MCB/NICVB 01-21 và RK13 WCB/NICVB 01-21

Ngân hàng tế bào được đánh giá chất lượng theo tiêu chuẩn của WHO (WHO TRS 978, phần 3, năm 2013) bao gồm: kiểm tra vô trùng; Mycoplasma; tính đồng nhất giữa các ống tế bào, độ sống và kiểm tra virus ngoại lai.

Về vô trùng: Việc kiểm tra vi khuẩn, nấm được thực hiện trên sản phẩm cuối cùng bao gồm cả MCB và WCB RK13. Kết quả cho thấy ngân hàng tế bào RK13 NICVB/MCB01-21 và NICVB/WCB01-21 đạt yêu cầu về vô trùng theo tiêu chuẩn của WHO và Dược điển Việt Nam V [1].

Tính đồng nhất giữa các ống tế bào là chỉ tiêu để xác định sự đồng đều về nồng độ tế bào giữa các ống trong tập hợp ngân hàng tế bào, để đảm bảo sự ổn định qua mỗi lần sử dụng của ngân hàng mẫu chuẩn dùng trong kiểm định vắc xin, sinh phẩm y tế. Các ống tế bào được tiến hành kiểm tra độ sống ở thời điểm đầu – giữa – cuối quy trình đóng ống đều cho các kết quả nằm trong khoảng $\pm 2SD$, ngân hàng tế bào đạt yêu cầu về tính đồng nhất theo tiêu chuẩn của WHO TRS 978, 2013 [5].

Về độ sống: Tế bào được nuôi cấy trên môi trường MEM10% FBS cho kết quả hình thái tế bào RK13 đặc trưng khi quan sát trên kính hiển vi có độ sống trung bình và từng kết quả các lần thử nghiệm kiểm tra đều $\geq 80\%$ so với sau khi đóng ống là $2,10 \times 10^6$ tế bào/ống/ml và là $1,60 \times 10^6$ tế bào/ống/ml, đạt yêu cầu về độ sống [5].

Việc kiểm tra nhiễm Mycoplasma trong các ngân hàng tế bào chuẩn là rất quan trọng, vì Mycoplasma là tác nhân nhiễm phổ biến trong các phòng nuôi cấy tế bào. Mycoplasma

có thể làm thay đổi đáng kể các tế bào nuôi cấy, làm sai lệch kết quả nghiên cứu và kết quả kiểm định. Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng 2 phương pháp phát hiện Mycoplasma là phương pháp dùng chỉ thị tế bào Vero sử dụng bộ kit MycoFlour™ dựa trên việc khai thác chất nhuộm huỳnh quang có khả năng gắn vào nucleic acid (cell indicator method) của Mycoplasma và phương pháp nuôi cấy trực tiếp trên môi trường PPLO (direct method). Đây là 2 phương pháp được Tổ chức Y tế thế giới 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 Mycoplasma bằng cả 2 phương pháp trên cho thấy ngân hàng tế bào RK13 NICVB/MCB01-21 và NICVB/WCB01-21 đạt yêu cầu về kiểm tra Mycoplasma. Mặt khác, 2 phương pháp kiểm tra Mycoplasma được tiến hành trong nghiên cứu cũng trùng khớp với CoA của tế bào chuẩn từ ATCC [2], [4],[5].

Kiểm tra tác nhân ngoại lai invitro trên 3 dòng tế bào khác nhau Vero, MRC5, RK13 khác loại. Kết quả cho thấy không phát hiện tác nhân ngoại lai trong quá trình nuôi cấy sản xuất ngân hàng tế bào chuẩn RK13, đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn WHO [5]

Trong khuôn khổ nghiên cứu này chúng tôi không tiến hành kiểm tra tác nhân ngoại lai invivo do tế bào chuẩn nhận từ ATCC Mỹ, các nguyên vật liệu có CoA kiểm soát chất lượng đầy đủ và hơn nữa quá trình nuôi cấy và thiết lập ngân hàng không liên quan đến động vật [6].

5. Kết luận:

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm nghiên cứu đã thiết lập thành công được 2

ngân hàng tế bào MCB và WCB với mã số lần lượt là RK13 NICVB/MCB01-21 (252 ống, mỗi ống chứa $2,25 \times 10^6$ tế bào) và RK 13 NICVB/WCB01-21 (356 ống, mỗi ống chứa $1,67 \times 10^6$ tế bào) đạt yêu cầu về số lượng đúng tiêu chuẩn của WHO cho mẫu chuẩn ngân hàng tế bào.

Kết quả đánh giá chất lượng 2 ngân hàng tế bào là RK13 NICVB/MCB01-21 và RK 13 NICVB/WCB01-21 đạt yêu cầu về thử nghiệm vô trùng, không nhiễm *Mycoplasma*, độ sống trung bình đạt $2,10 \times 10^6$ đối với ngân hàng MCB và đạt $1,60 \times 10^6$ đối với ngân hàng WCB, tính đồng nhất và không nhiễm vi rút ngoại lai. Cần tiếp tục theo dõi tính ổn định độ sống ngân hàng tế bào theo thời gian bảo quản.

Từ các kết quả nghiên cứu cho thấy có thể sử dụng ngân hàng tế bào RK13 MCB và WCB trong kiểm định chất lượng vắc xin và sinh phẩm y tế tại NICVB và các labo kiểm định nhà sản xuất.

References

- [1] Hội đồng Dược điển Việt Nam, “Phụ lục 15.7. Kiểm tra vô trùng vắc xin /sinh phẩm”. Dược điển Việt Nam V, NXB Y học, Hà Nội; 2017. tr 368–370.
- [2] Hội đồng Dược điển Việt Nam, “Phụ lục 15.47. Kiểm tra Mycoplasma trong vắc xin /sinh phẩm”. Dược điển Việt Nam V, NXB Y học, Hà Nội; 2017. tr 411-413.
- [3] Council of Europe European, European Direction for the quality of medicine (COE EDQM), “Cell substrates for the production of vaccines for human use. European pharmacopoeia 10.0, 2020. pp. 650 - 654.

- [4] FDA, Characterization, and qualification of cell substrates and other biological materials used in the production of viral vaccines for infectious disease indications. Guidance for industry; 2010.
- [5] WHO, “Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and the characterization of cell banks” (WHO Expert Committee on Biological Standardization, sixty-first report. Geneva, World Health Organization), WHO Technical Report Series, 2013, No.978, Annex 3, pp.84-165.
- [6] James Gombolda, Stephen Karakasidis, Paula Niksaa, John Podczasya, Kitti Neumann, James Richardson, Nandini Saneb, Renita Johnson-Levab, Valerie Randolphc, Jerald Sadoffd, Phillip Minore, Alexander Schmidt, Paul Duncang, and Rebecca L. Sheetsh, “Systematic Evaluation of In Vitro and In Vivo Adventitious Virus Assays for the Detection of Viral Contamination of Cell Banks and Biological Products” Vaccine, 2014 May 19; 32(24): 2916–2926.