

Thiết lập vắc xin mẫu chuẩn quốc gia heamophilus influenza type b

Establishment of the national reference for heamophilus influenza type b vaccine

Nguyễn Thị Kiều^{1*}, Đoàn Hữu Thiên¹, Đỗ Tuấn Đạt²,
Đường Thị Cẩm Lệ¹, Cảnh Huyền Trang¹,
Lê Hoàng Long², Đỗ Thị Phương¹

¹: Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế
(NICVB)

²: Công ty Trách nhiệm Hữu hạn Một thành viên Vắc xin
và Sinh phẩm số 1 (VABIOTECH)

Nguyen Thi Kieu¹, Doan Huu Thien¹, Do Tuan Dat²,
Duong Thi Cam Le¹, Canh Huyen Trang¹,
Le Hoang Long², Do Thi Phuong¹

¹: National institute for control of Vaccine and
Biologicals (NICVB)

²: Company for Vaccine and Biological production No1
(VABIOTECH)

TÓM TẮT

Việt Nam chưa có vắc xin mẫu chuẩn quốc gia để sử dụng trong thử nghiệm xác định hàm lượng Polyribosyl Ribitol Phosphat, thành phần đánh giá khả năng bảo vệ của vắc xin phòng bệnh do *Heamophilus influenza* type b (Hib). Với mục tiêu có được loạt mẫu chuẩn quốc gia vắc xin Hib, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế đã xây dựng tiêu chuẩn vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib, sản xuất lô vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển, đánh giá chất lượng và nội chuẩn với mẫu chuẩn quốc tế. Kết quả nghiên cứu cho thấy lô mẫu chuẩn dự tuyển đạt tiêu chuẩn đề ra, được công nhận là vắc xin mẫu chuẩn quốc gia với mã số MCQG.Hib.01, có hàm lượng Polyribosyl Ribitol Phosphat trong khoảng 5,00–5,74mg/lọ.

Từ khoá: *Vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib; MCQG.Hib.01.*

ABSTRACT

Vietnam still lacks the national standard Hib vaccine to determine the content of Polyribosyl Ribitol Phosphate, an indicator to assess the protective ability of vaccines against the diseases caused by *Heamophilus influenza* type b (Hib) bacteria. National Institute for Control of Vaccines and Biologicals has developed the specifications of the national standard Hib vaccine, produced a candidate batch, calibrated the candidate to the international standards to determine its value. The results show that the candidate meets the requirements, has been recognized as a national reference standard, namely MCQG.Hib.01, with a content of (5.00 - 5.74) mg PRP/vial.

Keywords: *National reference standard of Hib vaccine; MCQG.Hib.01.*

*Tác giả: Nguyễn Thị Kiều

ĐC: Số 1 Nghiêm Xuân Yêm, Đại Kim, Hoàng Mai, Hà Nội

Điện thoại: 0989207080

Email: kieunicvb@gmail.com

*Corresponding Investigator: Nguyen Thi Kieu

Address: No. 1 Nghiem Xuan Yem, Dai Kim,

Hoang Mai, Hanoi

Phone: 0989207080

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hàng năm, nhiều lô vắc xin có thành phần Hib như: ComBFive (Biological E.Limited, Ấn Độ), Tetract-Hib, Hexaxim (Sanofi pasteur, Pháp), Infanrix hexa (GSK, Bỉ),... được kiểm định chất lượng tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB). Thử nghiệm công hiệu vắc xin Hib được xác định thông qua hàm lượng Polyribosyl Ribitol Phosphat (PRP), cần thực hiện song song với vắc xin mẫu chuẩn [1]. Để kiểm định chất lượng vắc xin chứa thành phần Hib, NICVB và nhà sản xuất phải sử dụng mẫu chuẩn nội bộ của nhà sản xuất hoặc mẫu chuẩn quốc tế, không chủ động trong kiểm định. Trong khi đó, mẫu chuẩn quốc tế chỉ được sử dụng để nối chuẩn (calibrate) mẫu chuẩn quốc gia với mẫu chuẩn quốc tế [2, 3].

Xuất phát từ nhu cầu trên, chúng tôi thực hiện đề tài “Thiết lập vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib” với mục tiêu:

1. Xây dựng tiêu chuẩn vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib.
2. Sản xuất lô vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib đạt tiêu chuẩn, dùng trong 5-10 năm.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu:

Tiêu chuẩn vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib; vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển Hib, mã số PRP0120, bảo quản ở nhiệt độ $\leq -70^{\circ}\text{C}$.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu được thực hiện tại NICVB và VABIOTECH.

Thời gian nghiên cứu: Từ năm 7 đến năm 2021.

Hình 1. Lô vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển Hib PRP0120



I. INTRODUCTION

Annually, vaccines containing Hib components such as: ComBFive (Biological E.Limited, India), Tetract-Hib, Hexaxim (Sanofi pasteur, France), Infanrix hexa (GSK, Belgium) are tested for quality control at the National Institute for Control of Vaccines and Biologicals (NICVB). The Hib vaccine potency test is determined by the content of Polyribosyl Ribitol Phosphate (PRP), which should be performed in parallel with the standard sample vaccine [1]. To verify the quality of vaccine containing Hib components, NICVB and the manufacturer must use the manufacturer's internal standard samples or international standard samples. Meanwhile, the international standard sample is only used to calibrate the national standard sample to the international one [2, 3].

Derived from the necessity, the project “Establishing the national standard Hib vaccine” were implemented with the goal of:

1. Developing national standard Hib vaccine standards.
2. Producing standard batches of national standard Hib vaccine that would be sufficient for 5 to 10 years usage.

II. RESEARCH METHODOLOGY

2.1. Research subjects

Research subject:

National Standard Hib Vaccine; Candidate standard Hib vaccine, code PRP0120, stored at $\leq -70^{\circ}\text{C}$.

2.2. Research location and duration

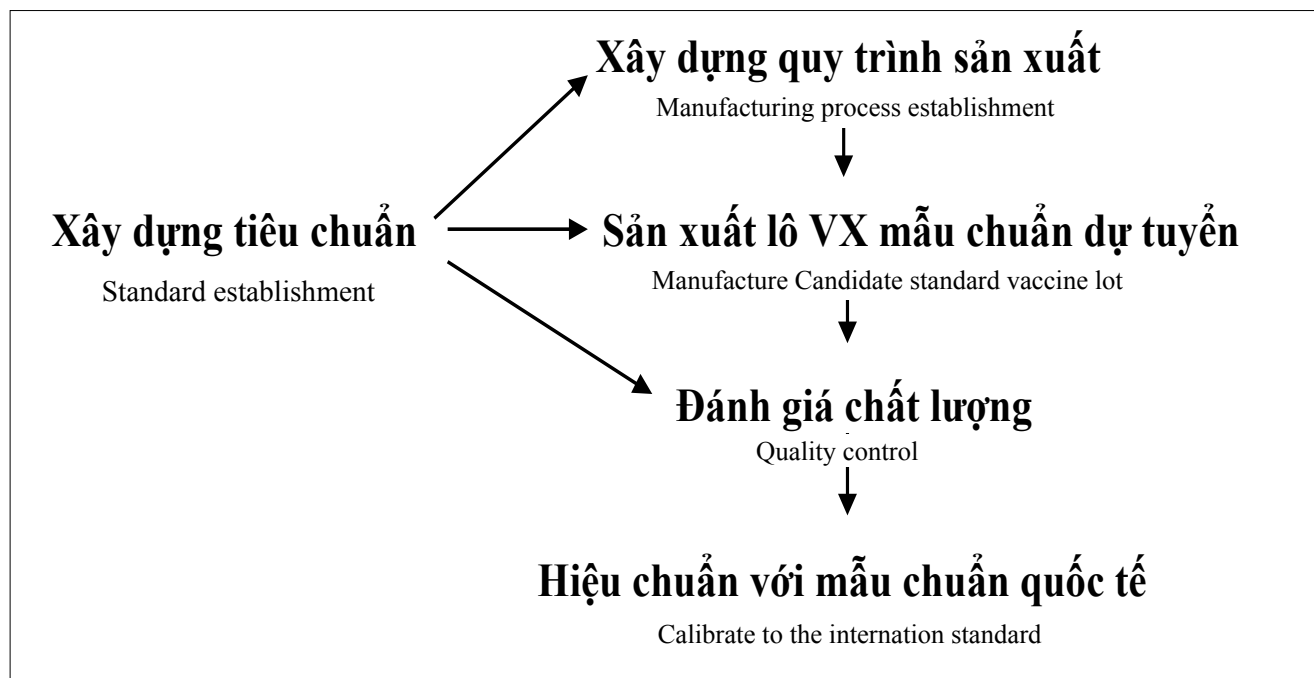
Research location: The research was conducted at NICVB and VABIOTECH.

Research duration: From 2017 to 2021.

Figure 1. Vial of Candidate standard Hib vaccine PRP0120

2.3. Thiết kế nghiên cứu

2.3. Research design



Hình 2. Sơ đồ nghiên cứu

Figure 2. Research diagram

Tiêu chuẩn vắc xin mẫu chuẩn quốc gia được NICVB xây dựng dựa vào các hướng dẫn của WHO về thiết lập vắc xin mẫu chuẩn quốc gia [2, 3], tiêu chuẩn của vắc xin Hib thương mại [1] và điều kiện thực tế sản xuất mẫu chuẩn. Tiêu chuẩn này được sử dụng để xây dựng quy trình sản xuất vắc xin mẫu chuẩn, đánh giá chất lượng lô vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển. Nếu đạt yêu cầu, lô vắc xin dự tuyển được nội chuẩn với mẫu chuẩn quốc tế bằng cách thực hiện thử nghiệm xác định hàm lượng PRP song song với mẫu chuẩn quốc tế, xác định hàm lượng PRP của mẫu chuẩn dự tuyển thông qua hàm lượng mẫu chuẩn quốc tế.

Trang thiết bị, dụng cụ

Nghiên cứu sử dụng dây chuyền sản xuất vắc xin ALHIBVAX tại VABIOTECH, các trang thiết bị kiểm định vắc xin Hib tại NICVB.

Vật liệu, hóa chất, môi trường, mẫu chuẩn

Vắc xin mẫu chuẩn quốc tế Hib, mã số 12/306 (Viện quốc gia về sinh học tiêu chuẩn và kiểm soát – NIBSC, Anh), hàm lượng PRP $4,904 \pm 0,185$ mg/ống.

2.4. Cỡ mẫu nghiên cứu

Cỡ mẫu cho từng chỉ số được xác định theo hướng dẫn của Tổ chức y tế thế giới (WHO).

The national standard vaccine is developed at NICVB based on WHO guidelines on establishing the national standard vaccine [2, 3], the commercial standard Hib vaccine [1] and the actual conditions of standard manufacturing. This standard is used to build the manufacturing process of standard vaccine, evaluate the quality of batches of candidate standard vaccine. If the candidate meets the requirements, it will be calibrated to the international standard by performing a test to determine the PRP content in parallel with the international standard. This process compares the PRP content of the newly manufactured standard to the international standard.

Equipment and tools

Research using ALHIBVAX production line at VABIOTECH and Hib vaccine quality control equipment at NICVB.

Materials, chemicals, media, standards

International standard Hib vaccine, code 12/306 (National Institute for Biological Standard and Control – NIBSC, UK), PRP content $4,904 \pm 0.185$ mg/tube.

2.4. Study sample size

The sample size for each indicator was determined according to WHO guidelines.

Bảng 1. Cỡ mẫu cho từng thử nghiệm

Tên thử nghiệm	Cỡ mẫu
Cảm quan	10 lọ [2]
Độ lệch trọng lượng	5 lọ [4]
Vô trùng	20 lọ [5, 6]
Nhận dạng	1 lọ [2]
Công hiệu	3 lọ [2]

2.5. Phương pháp chọn mẫu

Các lọ vắc xin dùng trong nghiên cứu được chọn ngẫu nhiên.

2.6. Chỉ số đánh giá

Các chỉ số đánh giá ở mỗi bước được lựa chọn dựa trên hướng dẫn của WHO về tiêu chuẩn vắc xin mẫu chuẩn quốc gia [2, 3]; tiêu chuẩn vắc xin thương mại chứa thành phần Hib [1].

Table 1. Sample size for each test

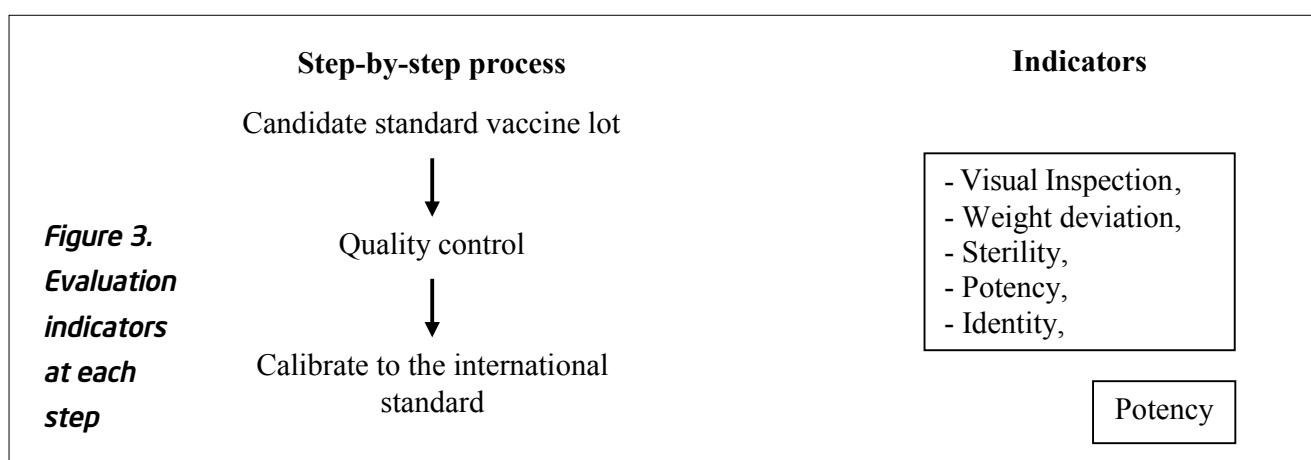
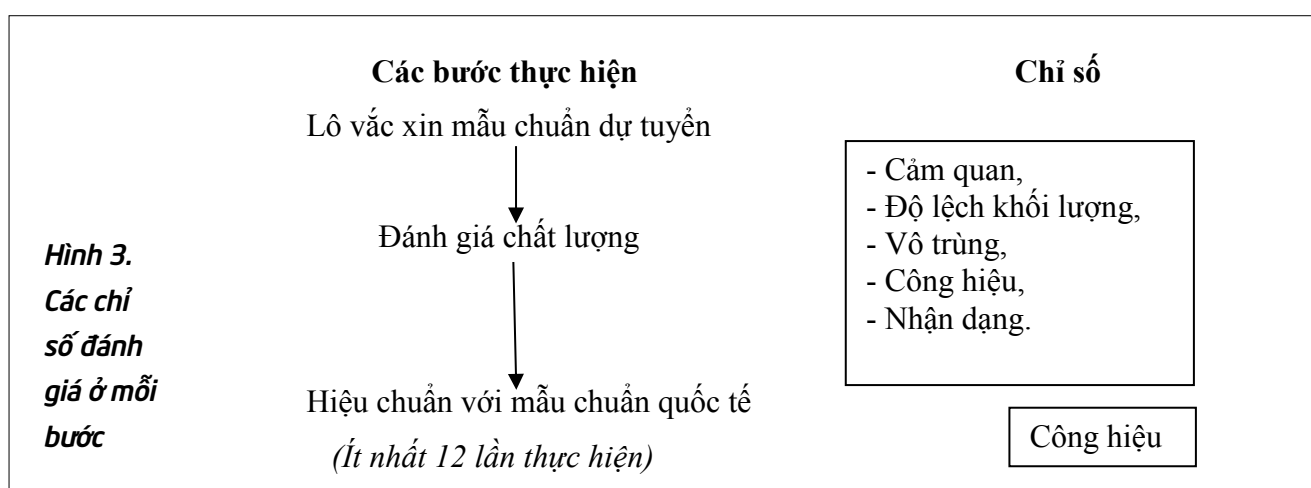
Test Name	Sample Size
Visual Inspection	10 vials [2]
Weight deviation	5 vials [4]
Sterility	20 vials [5, 6]
Identity	1 vial [2]
Potency	3 vials [2]

2.5. Sampling method

The vaccine vials used in the study were selected randomly.

2.6. Evaluation indicators

The evaluation indicators at each step are selected based on WHO guidelines on the national standard vaccine [2, 3]. The commercial standard vaccine contains a Hib component [1].

**2.7. Phương pháp thu thập thông tin**

Xác định độ lệch khối lượng giữa các lọ VX

2.7. Data collection methods

Determination of weight deviation between

bằng phương pháp cân [4], kiểm tra vô trùng loạt mẫu chuẩn bằng hương pháp nuôi cấy trực tiếp [5, 6], nhận dạng thành phần Hib bằng phương pháp ngưng kết [1], xác định hàm lượng PRP bằng phương pháp sắc ký ion [1, 7, 8].

2.8. Xử lý và phân tích số liệu

Sử dụng phần mềm Excel tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn (SD) của công hiệu mẫu chuẩn.

2.9. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện hoàn toàn trong phòng thí nghiệm, không thực hiện trên người hay động vật thí nghiệm.

III. KẾT QUẢ

3.1. Kết quả xây dựng tiêu chuẩn chất lượng vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib

Căn cứ vào các hướng dẫn của WHO về thiết lập vắc xin mẫu chuẩn quốc gia [2, 3], tiêu chuẩn của vắc xin Hib thương mại [1], dựa trên điều kiện thực tế tại Việt Nam, tiêu chuẩn của vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib được xây dựng như sau:

Bảng 2. Tiêu chuẩn vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib

Tiêu chí	Phương pháp đánh giá	Tiêu chuẩn chấp nhận
Dạng	Mắt thường	Dạng đông khô
Vô trùng	Nuôi cấy trực tiếp	Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm sau 14 ngày nuôi cấy
Cảm quan	Mắt thường	Bánh đông khô, đồng nhất, màu trắng.
Độ lệch khối lượng	Cân	$\leq 7,5\%$
Nhận dạng	Ngưng kết hạt	Chứa kháng nguyên Hib (Xuất hiện tủa với kháng thể đặc hiệu)
Công hiệu (Hàm lượng PRP)	Sắc ký ion	$\geq 5\text{mg/l}$

3.2. Kết quả thiết lập vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib

Lô mẫu chuẩn dự tuyển được sản xuất với số lượng 1500 lọ, đủ dùng trong hơn 10 năm. Sau

vaccine vials by weighing method [4], sterility check of standard vaccine lot by direct culture method [5, 6], Hib component identification by agglutination method [1]], PRP content was determined by ion chromatography [1, 7, 8].

2.8. Data processing and analysis

Use Excel software to calculate the mean, standard deviation (SD) of the standard vaccine.

2.9. Research ethics

The research was done entirely in a laboratory, no humans or laboratory animals was involved.

III. RESULT

3.1. Results of development of quality standards for national standard Hib vaccine

Based on WHO guidelines on establishing national standard vaccine [2, 3], standards of commercial Hib vaccine [1], based on actual conditions in Vietnam, standards of national standard Hib vaccine is established as follows:

Table 2. Standards of national standard Hib vaccine

Criteria	Measurement Method	Acceptance Criteria
Form	Naked eye	Freeze-dried
Sterility	Direct culture	No development of bacteria and fungi after 14 days
Visual Inspection	Naked eye	Freeze-dried, homogeneous, white cake.
Weight deviation	Weight	$\leq 7,5\%$
Identity	Stop bead agglomeration	Contains Hib antigens (Precipitation with specific antibodies)
Potency (PRP content)	Ion chromatography	$\geq 5\text{mg/vial}$

3.2. Results of establishing national standard Hib vaccine

The selected standard sample batch is produced in

sản xuất, lô vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển được kiểm tra chất lượng tại NICVB.

3.2.1. Kết quả kiểm định chất lượng lô mẫu chuẩn dự tuyển PRP0120

the quantity of 1500 vials, which is enough for more than 10 years. After production, the selected batch of standard vaccine is tested for quality control at NICVB.

3.2.1. Results of quality control of the batch of standard Hib vaccine PRP0120

Tiêu chí	Tiêu chuẩn chấp nhận	Kết quả	Kết luận
Dạng	Dạng đông khô	Dạng đông khô	Đạt
Vô trùng	Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm sau 14 ngày nuôi cấy	Không có dấu hiệu phát triển của vi khuẩn và nấm sau 14 ngày nuôi cấy	Đạt
Cảm quan	Bánh đông khô, đồng nhất, màu trắng.	Bánh đông khô, đồng nhất, màu trắng.	Đạt
Độ lệch khối lượng	$\leq 7,5\%$	TB = 0,0036 g SD = 0,00017728 CV (%) = 3,6 %	Đạt
Nhận dạng	Chứa kháng nguyên Hib (Xuất hiện tủa với kháng huyết thanh đặc hiệu)	Chứa kháng nguyên Hib. Xuất hiện tủa giữa mẫu thử và kháng huyết thanh <i>H. influenzae</i> type b chuẩn.	Đạt
Công hiệu	≥ 5 mg/lọ	5,04 mg/lọ	Đạt

Bảng 3. Kết quả kiểm định chất lượng lô mẫu chuẩn Hib PRP0120

Criteria	Acceptance Criteria	Result	Conclusion
Form	Freeze-dried	Freeze-dried	Pass
Sterility	No development of bacteria and fungi after 14 days	No development of bacteria and fungi after 14 days	Pass
Sensation	Freeze-dried, homogeneous, white cake.	Freeze-dried, homogeneous, white cake.	Pass
Weight deviation	$\leq 7,5\%$	TB = 0,0036 g SD = 0,00017728 CV (%) = 3,6 %	Pass
Identity	Contains Hib antigens (Precipitation with specific antibodies)	Contains Hib antigens. Precipitation occurs between the sample and the standard <i>H. influenzae</i> type b antisera.	Pass
Potency	≥ 5 mg/vial	5.04 mg/vial	Pass

Table 3. Quality control results of the batch of standard Hib vaccine PRP0120

Lô vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển Hib PRP0120 đạt yêu cầu của mẫu chuẩn quốc gia Hib như đã đề ra trong mục tiêu 1.

3.2.2. Kết quả nối chuẩn với vắc xin mẫu chuẩn quốc tế

Lô mẫu chuẩn dự tuyển được nối chuẩn với mẫu chuẩn quốc tế để bằng cách thực hiện thử nghiệm xác định hàm lượng kháng nguyên Hib song song với mẫu chuẩn quốc tế.

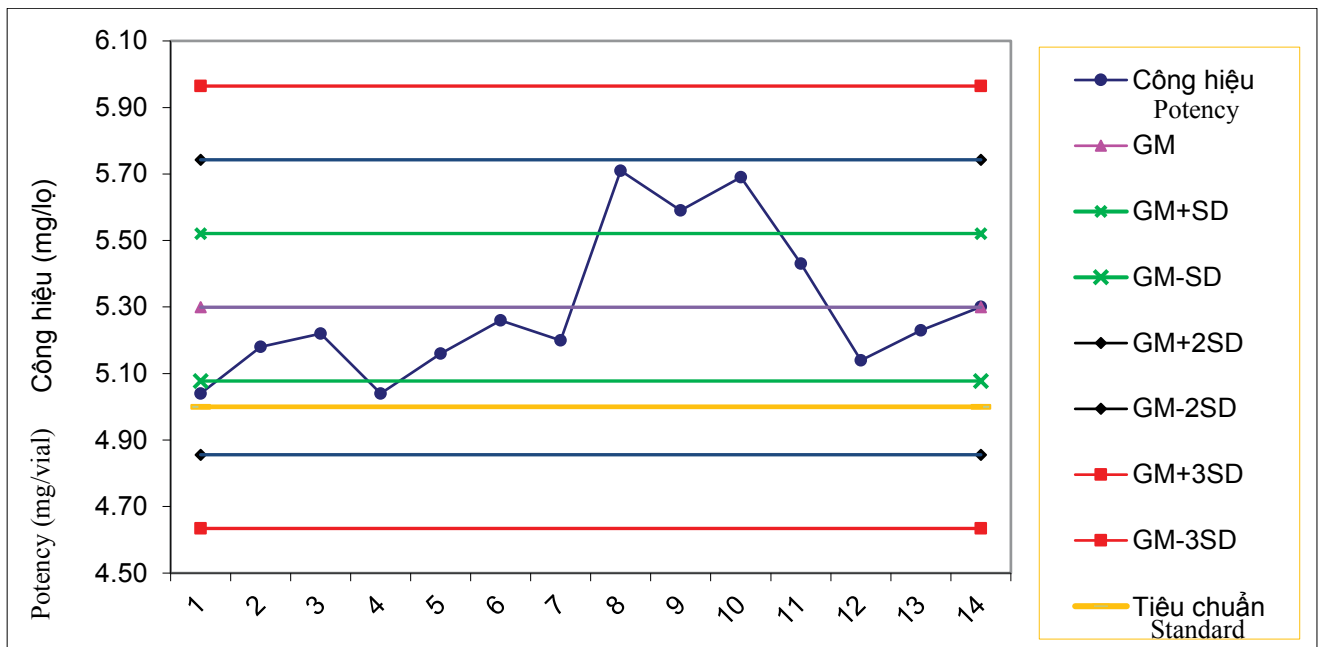
Kết quả nối chuẩn lô PRP0120 với mẫu chuẩn quốc tế thu được như hình sau.

The batch of candidate standard Hib vaccine PRP0120 meets the requirements of the standard as set out in objective 1.

3.2.2. Results of calibrating to the international standard vaccines

The candidate standard vaccine lot is calibrated to the international standard by performing the test to determine the Hib antigen content in parallel with the international standard

Results of calibrating standard batch PRP0120 to the international standard sample are obtained as shown below.



Hình 4. Kết quả nối chuẩn vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển Hib

Figure 4. Results of standardization of candidate standard Hib vaccines

Toàn bộ 14 kết quả thu được đều nằm trong giới hạn $GM \pm 2SD$. Giá trị công hiệu của lô mẫu chuẩn Hib là: $(5,30 \pm 0,44)$ mg/lq. Lô mẫu chuẩn dự tuyển chính thức được sử dụng làm vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib lần thứ nhất với mã số MCQG.Hib.01.



Hình 5. Hình ảnh lọ vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib lần thứ nhất

All 14 results are within the range of $GM \pm 2SD$. The potency value for the batch of standard Hib vaccine is: (5.30 ± 0.44) mg/vial. The batch of standard vaccine is officially used as the first National Standard Hib vaccine with code MCQG.Hib.01.

Figure 5. Image of the first National Standard Hib vaccine vial

NICVB đã xây dựng hướng dẫn sử dụng và ban hành quyết định cho phép sử dụng vắc xin mẫu chuẩn này tại Việt Nam.

NICVB has developed an user manual and issued a decision to allow the use of this standard vaccine in Vietnam.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về tiêu chuẩn cho mẫu chuẩn quốc gia Hib

Tiêu chuẩn cho mẫu chuẩn quốc gia vắc xin Hib đã được xây dựng theo hướng dẫn của WHO về thiết lập vắc xin MCQG, tiêu chuẩn này được dùng cho các lần thiết lập vắc xin mẫu chuẩn tiếp theo. Theo tiêu chuẩn đó, VX mẫu

IV. DISCUSSION

4.1. Discussion of the standard for national standard Hib vaccine

The national standard Hib vaccine has been developed following the WHO guidelines for national standard vaccine establishment. This standard is used for subsequent establishment of the later standard vaccine. According to the

chuẩn quốc gia Hib ở dạng đông khô để có tính ổn định cao nhất.

Công hiệu là chỉ tiêu quan trọng nhất trong xây dựng vắc xin mẫu chuẩn. Khi xây dựng tiêu chuẩn vắc xin mẫu chuẩn Hib, tiêu chí công hiệu của vắc xin mẫu chuẩn được chúng tôi đưa ra với hàm lượng tối thiểu trên 5 mg/lọ, tương đương tiêu chuẩn của mẫu chuẩn quốc tế.

Vắc xin mẫu chuẩn cũng cần đạt tiêu chuẩn vô trùng như vắc xin thương mại để đảm bảo chất lượng, không bị hỏng do sự phát triển của vi khuẩn và nấm.

Tiêu chuẩn mẫu chuẩn quốc gia Hib trong nghiên cứu này tương đương mẫu chuẩn quốc tế trừ tiêu chuẩn độ ẩm tồn dư, không được đưa vào như một tiêu chí để đánh giá, do khối lượng 1 ống mẫu chuẩn Hib quá nhỏ, chỉ có 5 mg, rất khó để làm khô và xác định khối lượng hao hụt sau khi làm khô.

Độ ẩm ảnh hưởng đến tính ổn định của các sản phẩm đông khô khi bảo quản trong thời gian dài. Không xác định được độ ẩm tồn dư, nghiên cứu dự đoán hạn dùng của MCQG.Hib.01 đã được chúng tôi triển khai để khẳng định độ ổn định của mẫu chuẩn và sẽ trình bày trong bài báo tiếp theo. Ngoài ra, hàng năm hàm lượng PRP trong các lọ mẫu chuẩn sẽ được xác định lại để theo dõi hạn sử dụng theo thời gian thực.

Mẫu chuẩn quốc gia Hib dự kiến có tính ổn định cao vì hai lý do: Sản phẩm ở dạng đông khô (có tính ổn định cao hơn dạng lỏng) và có bản chất hóa học (Polyribosyl ribitol phosphat: PRP). Theo tài liệu của NIBSC, mẫu chuẩn quốc tế Hib 12/306 sản xuất từ 2013, đến nay vẫn ổn định khi bảo quản ở -20°C , tốc độ phân hủy trung bình 0,016%/năm [9]. Với tốc độ phân hủy này, 1 lần làm thử nghiệm tại NICVB chỉ cần 0,15 mg, hạn dùng của mẫu chuẩn MCQG.Hib.01 dự kiến trên 10 năm. Hơn nữa, để kéo dài hạn dùng vắc xin mẫu chuẩn, VX mẫu chuẩn quốc gia Hib được bảo quản ở tủ có nhiệt độ dưới -70°C , nhiệt độ thấp nhất có thể đạt được trong các tủ âm sâu để tăng hạn sử dụng cho mẫu chuẩn.

standard, national standard Hib vaccine should be in lyophilized form to remain the highest stability.

Potent test is the most important criterion in establishment of standard vaccine. When developing the standard for standard Hib vaccine, the potency criteria of the standard vaccine were set at a minimum content of over 5 mg/vial, equivalent to the standard of international standard vaccine.

The standard vaccine must meet the same sterility standards as commercial vaccine to ensure the quality, as well as not being spoiled due to bacterial and fungal growth.

The standard of national standard Hib vaccine in this study is equivalent to the international standard except for the residual moisture standard, which is not included as a criterion for evaluation. This due to the volume of single standard Hib vaccine tube is too small, only 5 mg, which makes it difficult to dry and determine the weight deviation after drying.

Humidity affects the stability of freeze-dried products during long-term storage. The residual moisture could not be determined, the shelf life prediction study of MCQG.Hib.01 has been developed to confirm the stability of the standard sample and will be presented in the future study. In addition, the PRP content in the standard vaccine vials is re-determined annually for real-time shelf-life monitoring.

The National Standard Hib vaccine is expected to be highly stable for two reasons: The product is lyophilized (more stable than the liquid form) and has a chemical nature (Polyribosyl ribitol phosphate: PRP). According to NIBSC, the international standard sample Hib 12/306 produced since 2013, is still stable when stored at -20°C , the average decomposition rate is 0.016%/year [9]. With this decomposition rate, each test at NICVB only needs 0.15 mg, the shelf life of standard sample MCQG.Hib.01 is expected to be over 10 years. Furthermore, to extend the shelf life of the standard vaccine, the National Standard Hib vaccine is stored in a cabinet with a temperature below -70°C , the lowest temperature achievable in deep cabinets to increase

4.2. Bàn luận về lô mẫu chuẩn quốc gia vắc xin Hib đã thiết lập

Dựa trên các tiêu chuẩn đã xây dựng, chúng tôi thấy dây chuyền và quy trình sản xuất vắc xin Hib – ALHIBVAC (dạng lỏng) đã đáp ứng yêu cầu sản xuất mẫu chuẩn bán thành phẩm. So với dây chuyền sản xuất Hib – ALHIBVAC, nghiên cứu xây dựng thêm quy trình đông khô để có thành phẩm cuối cùng ở dạng đông khô.

Công nghệ sản xuất vắc xin Hib cộng hợp với giải độc tố Uôn ván (PRP-T) tại Việt Nam đã được VABIOTECH phối hợp với Viện Quốc gia về Sức khỏe trẻ em và phát triển con người thuộc Viện Quốc gia Y tế Hoa Kỳ (NIH) nghiên cứu và phát triển [10]. Sản xuất và thiết lập thành công vắc xin mẫu chuẩn Hib sẽ giúp cho việc chủ động xuất xưởng các lô vắc xin chứa thành phần Hib, kịp thời cung cấp cho người dân cũng như tiến tới xuất khẩu vắc xin Hib trong tương lai.

Lô mẫu chuẩn trên đã được kiểm định bằng các phương pháp chuẩn thức, được sử dụng rộng rãi và thẩm định ở các phòng kiểm định vắc xin trên thế giới, cho kết quả nghiên cứu tin cậy [1, 3].

Hàm lượng PRP là tiêu chuẩn quan trọng nhất của vắc xin mẫu chuẩn Hib, theo khuyến cáo của WHO, để xác định hàm lượng PRP trong vắc xin Hib có thể dùng 3 phương pháp: Đo mật độ quang bằng máy quang phổ hoặc phép thử so màu, sắc ký và miễn dịch học [1]. Trong nghiên cứu này, phương pháp sắc ký trao đổi ion được lựa chọn để xác định công hiệu của vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển do đã được thẩm định ở nhiều quốc gia và được xem như một phương pháp thay thế phương pháp orcinol với độ nhạy cao hơn [11].

Việc nối chuẩn với mẫu chuẩn quốc tế được thực hiện tại hai phòng thí nghiệm độc lập tại VABIOTECH và NICVB, số lượng phòng thí nghiệm không nhiều do tại Việt Nam chỉ có cơ quan kiểm định quốc gia và 1 nhà sản xuất thực hiện được thử nghiệm này. Tình trạng này cũng tương tự ở các quốc gia khác. Số lượng quốc gia

shelf life for standard vaccines.

4.2. Discussion of the national standard batch of Hib vaccine established

Based on the established standards, we found that the Hib - ALHIBVAC (liquid) production line and production process met the requirements for producing semi-finished standard vaccine. Compared with the Hib - ALHIBVAC production line, the study has added a freeze-dried process to obtain the final product in freeze-dried form.

VABIOTECH coordinated with the National Institute of Child Health and Human Development under the National Institutes of Health (NIH) (USA) in researching and developing the manufacturing technology of conjugate Hib vaccine with tetanus toxoid (PRP-T) in Vietnam [10]. Successful production and establishment of standard Hib vaccine will help to perform lot release proactively batches of vaccines containing Hib components, promptly supply to people as well as proceed to export Hib vaccine in the future.

The above batch of standard vaccine has been tested by standard methods, which are widely used and validated in vaccine testing laboratories around the world, giving reliable research results [1, 3].

PRP content is the most important criterion of standard Hib vaccine. As recommended by WHO, determination of PRP content in Hib vaccine can use 3 methods: Measure optical density by spectrophotometer or colorimetric, chromatographic and immunological tests [1]. In this study, ion chromatography method was chosen to determine the efficacy of the candidate standard vaccine because it has been validated in many countries and is considered as an alternative to orcinol method with higher sensitivity. [11].

The calibration to the international standard is done at two independent laboratories, at VABIOTECH and at NICVB, the number of laboratories is not much because there is only a national quality control agency and one manufacturer that is able to perform testing for this product in Vietnam. The situation is similar in other countries. The number of countries

sản xuất được vắc xin Hib trên thế giới không nhiều, ở mỗi quốc gia cũng thường chỉ có 1 nhà sản xuất cho mỗi vắc xin, rất ít nước có nhiều nhà sản xuất cùng 1 vắc in.

Mặc dù chỉ có hai phòng thí nghiệm tham gia nhưng kết quả tin cậy cao do:

Sắc ký trao đổi ion là phương pháp chính thống đã được WHO công nhận, đã được thẩm định ở nhiều PTN lớn; Nhân viên thực hiện thử nghiệm được đào tạo, đánh giá tay nghề; Vật tư, hóa chất, môi trường, trang thiết bị được kiểm soát và đảm bảo: Vật tư, hóa chất sử dụng từ các hãng uy tín, có chứng chỉ phân tích đầy đủ, trang thiết bị được hiệu chuẩn định kỳ hằng năm.

V. KẾT LUẬN

Sau gần 4 năm thực hiện, nghiên cứu đã xây dựng được tiêu chuẩn cho vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib; đã sản xuất được lô vắc xin mẫu chuẩn quốc gia Hib đạt tiêu chuẩn đề ra với hàm lượng PRP đạt $5,30 \pm 0,44$ mg/lọ, số lượng dự kiến dùng trong 10 năm.

producing Hib vaccine in the world is not much, in each country there is usually only one manufacturer for each vaccine, very few countries have many manufacturers that produce the same vaccine.

Although only two laboratories participated, the results are highly reliable due to:

Ion chromatography is the official method recognized by WHO, has been validated in many reputational laboratories; Testing staff are trained and assessed; Materials, chemicals, environment, and equipment are controlled and guaranteed: Materials and chemicals are used from reputable and certified companies with fully analysis certificate (Certificate of Analysis - CoA), equipment is calibrated annually.

V. CONCLUSION

After 4 years, the research has developed a standard for the national standard Hib vaccine; produced a batch of national standard Hib vaccine that meets the set standards with PRP content of 5.30 ± 0.44 mg/vial, with the quantity expected to be used in 10 years.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

REFERENCE

1. World Health Organization, "Recommendations for the production and control of Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine", WHO TRS 897, annex 1, (2000).
2. World Health Organization, "Manual for the establishment of national and other secondary standards for vaccines", WHO/IVB/11.03, (2011).
3. World Health Organization, "Recommendation for preparation, characterization and establishment of international and other biological reference standards", WHO TRS 932, annex 2, (2006).
4. National Institute of Infectious Diseases (Japan), "Test for weight variation". Minimum requirements for biological products, p. 286, 2006.
5. World Health Organization, "General requirements for the sterility of biological substance", WHO TRS 530, annex 4, 1973.
6. US Pharmacopoeial convention, "71. Sterility test", The United States Pharmacopoeia. XXXIV ed 2020, pp. 76-90.
7. Fatme Mawas, Karena Burkin, Thomas Dougall et al, International collaborative study for the calibration of a replacement International Standard for the WHO 1st

International Standard for Haemophilus influenzae type b polysaccharide," World Health Organization press WHO/BS/2014.2239, Geneva 2014.

8. Fatme Mawas, Barbara Bolgiano, Danielle Belgrave et al, international collaborative study to evaluate a candidate international standard for Haemophilus influenzae type b capsular polysaccharide. World Health Organization Press WHO/BS/05.2018, Geneva, 2005.

9. National Institute for Biological Standard and Control, Instructions for use (Version 10.0, Dated 08/11/2019) WHO 2nd International Standard for Haemophilus influenzae polysaccharide Polysaccharide Ribitol Phosphate (PRP) NIBSC code: 12/306.

10. The United States CDC, "Progress toward elimination of Haemophilus influenzae type b invasive disease among infants and children-United States, 1998-2000", MMWR, 51: 234-237, 2002.

11. P F He, J Tang, Yanqiao no Li, M G Li, Q Ye, "Determination of polysaccharide content in Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines by high performance anion exchange chromatography-pulsed amperometric detector", Chinese Journal of Biologicals. Vol. 26(7), pp. 1002-1005+1009, 2013.