

## VALIDATION OF POTENCY TEST OF MEASLES COMPONENT IN VACCINE MMR<sup>II</sup> BY CCID<sub>50</sub> METHOD

Nguyen Viet Anh\*, Do Thi Hong Anh, Nguyen Thi Ha, Tran Thi Phuong, Nguyen Thi Ly

\* National Institute for Control of Vaccine and Biologicals

Received 16 May 2022

Accepted 17 October 2022

### Abstract

Measles is one of the respiratory infectious diseases caused by virus that can be prevented by vaccination. Validation of effective and safety vaccine before market distribution is an important function of National Institute for Control of Vaccine and Biologicals (NICVB). Therefore, research team validated and evaluated procedure of potency test for measles component in trivalent vaccine MMR<sup>II</sup> (MSD) with accuracy, precision, robustness and specificity indicators. Validation method of potency test is used for measles component in trivalent vaccine MMR<sup>II</sup> (MSD) by Cell Culture Infectious Dose 50 (CCID<sub>50</sub>) that based on SOP KDQG-34: Standard procedure for full validation of NICVB . Potency test of measles component in trivalent vaccine MMR<sup>II</sup> by CCID<sub>50</sub> method was evaluated with accuracy, precision, robustness and specificity indicators. Potency results of standard and testing samples were in the allowed range with Coefficient of Variation  $CV \leq 25\%$ . Procedure of potency test for measles component in trivalent vaccine MMR<sup>II</sup> by CCID<sub>50</sub> method gives reliable results and is suitable with condition, chemicals and facility of Department of Quality control of Viral vaccine and it can be applied for routine potency test in National Institute for Control of Vaccines and Biologicals (NICVB).

*Keywords: Potency, MMR<sup>II</sup> vaccine, measles, CCID<sub>50</sub> method, procedure validation.*

\* Corresponding author

E-mail address: [anhmv.3010@gmail.com](mailto:anhmv.3010@gmail.com)

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i4.58>

## THẨM ĐỊNH QUY TRÌNH THỬ NGHIỆM CÔNG HIỆU THÀNH PHẦN SỞI TRONG VẮC XIN MMR<sup>II</sup> BẰNG PHƯƠNG PHÁP CCID<sub>50</sub>

Nguyễn Việt Anh\*, Đỗ Thị Hồng Ánh, Nguyễn Thị Hà, Trần Thị Phương, Nguyễn Thị Lý

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

*Nhận ngày 16 tháng 5 năm 2022*

*Chấp nhận đăng ngày 17 tháng 10 năm 2022*

### Tóm tắt

Sởi là một trong những bệnh truyền nhiễm qua đường hô hấp do vi rút gây ra có thể phòng ngừa bằng cách tiêm vắc xin. Việc đánh giá hiệu quả của vắc xin trước khi đưa ra thị trường là một nhiệm vụ quan trọng của Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB). Vì vậy, nhóm nghiên cứu tiến hành thẩm định quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> (MSD) với các tiêu chí độ đúng, độ chính xác, độ mạnh và độ đặc hiệu. Phương pháp thực hiện trong đề tài này được thực hiện theo SOP KĐQG- 34: Quy trình chuẩn thẩm định thử nghiệm toàn phần của Viện. Kết quả cho thấy, quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> bằng phương pháp CCID<sub>50</sub> đạt yêu cầu về các tiêu chí độ đúng, độ chính xác, độ mạnh và độ đặc hiệu qua từng lần thực hiện. Hiệu giá vắc xin mẫu chuẩn và mẫu thử đều nằm trong giới hạn cho phép với hệ số biến thiên CV ≤ 25%. Vì vậy, quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> bằng phương pháp CCID<sub>50</sub> cho kết quả tin cậy, phù hợp với điều kiện hóa chất và trang thiết bị của khoa Kiểm định vắc xin Vi rút và có thể áp dụng cho thử nghiệm thường quy tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB).

*Từ khóa: Công hiệu, vắc xin MMR<sup>II</sup>, sởi, phương pháp CCID<sub>50</sub>, thẩm định quy trình.*

## 1. Đặt vấn đề

Sởi là một bệnh truyền nhiễm do vi rút sởi gây ra có khả năng lây nhiễm cao qua giọt bắn đường hô hấp hoặc qua tiếp xúc với người bị bệnh, trong đó, con người là vật chủ tự nhiên duy nhất của vi rút sởi [2]. Vi rút sởi là vi rút ARN sợi đơn, là thành viên của chi Morbillivirus thuộc họ Paramyxovirus [1][3]. Sau thời gian ủ bệnh khoảng 10-14 ngày, bệnh nhân sẽ có một số triệu chứng như sốt cao, ho, sổ mũi và viêm kết mạc. Ngoài ra, các nốt đỏ bắt đầu xuất hiện trên cơ thể như trong miệng, mặt, cổ, chân tay, bụng, lưng [2][3].

Cho đến nay, trên thế giới vẫn chưa có phương pháp hay thuốc đặc trị cho bệnh sởi nhưng việc phát triển vắc xin và tiêm phòng đã đẩy lùi dịch bệnh đi đáng kể. Trước khi ban hành vắc xin phòng sởi năm 1963, số ca nhiễm trung bình ở Mỹ khoảng 549.000 trường hợp trong đó có đến gần 500 ca tử vong được ghi nhận. Đến năm 2000, sởi đã bị xóa sổ khỏi Mỹ tuy nhiên vẫn lưu hành ở các nước châu Âu, châu Á và châu Phi [2]. Trên thế giới, tuy tỉ lệ mắc và tử vong do sởi đã giảm được lần lượt là 66% và 73% trong những năm từ 2000 - 2018, nhưng số người tử vong do sởi được ghi nhận, đặc biệt là trẻ em dưới 5 tuổi vẫn hơn 140.000 trong năm 2018 [1][3]. Tại Việt Nam, từ

năm 2008 đến năm 2010, có 7948 ca mắc sởi được ghi nhận trên 60 tỉnh thành, tỉ lệ mắc bệnh là 93 ca/1.000.000 dân [6]. Ngoài ra, một nghiên cứu khác trên trẻ 6 tháng tuổi và 15 tháng tuổi được sinh ra từ các bà mẹ được tiêm chủng cho thấy 74% trẻ 6 tháng tuổi và 100% trẻ 15 tháng tuổi phát triển kháng thể trung hòa với sởi. Vì vậy, việc tiêm phòng sởi cho trẻ em cũng như phụ nữ chuẩn bị mang thai là một biện pháp phòng ngừa bệnh sởi hiệu quả [7].

Hiện nay, có 4 loại vắc xin sởi đơn và sởi phối hợp được cấp số đăng ký và lưu hành tại Việt Nam là MVVAC (Sởi đơn) và MRVAC (Sởi- Rubella phối hợp) do công ty Polyvac, Việt Nam sản xuất. Hai vắc xin đa giá sởi- quai bị- rubella nhập khẩu còn lại là vắc xin Measles, Mumps and Rubella sống giảm độc lực dạng đông khô (Serum Institute of India, Ấn Độ) và MMR<sup>II</sup> (Merck Sharp & Dohme, MSD, Mỹ). Vắc xin sởi-quai bị- rubella phối hợp MMR<sup>II</sup> do Công ty MSD đăng ký lưu hành tại Việt Nam đã được Bộ Y tế cấp số đăng ký lần đầu tiên từ năm 1998. MMR<sup>II</sup> là vắc xin dạng đông khô vô trùng bao gồm Attenuvax (vắc xin sởi sống), Mumpsavax (vắc xin quai bị sống), Meruvax<sup>II</sup> (vắc xin rubella sống). Vi rút sởi sống giảm độc lực trong vắc xin MMR<sup>II</sup> được phân lập từ chủng Edmonston và nhân

lên trong tế bào phôi gà. Sau khi hoàn nguyên, hiệu giá vi rút sợi trong mỗi liều không thấp hơn 1000 CCID<sub>50</sub> [7]. Việc tiến hành thử nghiệm công hiệu thành phần sợi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> không những là một trong những tiêu chí đảm bảo chất lượng của sản phẩm trước khi đưa ra thị trường mà còn góp phần trong công cuộc đẩy lùi dịch bệnh trong nước và quốc tế. Do đó, nhóm nghiên cứu đã xây dựng quy trình thẩm định thử nghiệm công hiệu thành phần sợi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> bằng phương pháp CCID<sub>50</sub> trên các tiêu chí độ đúng, độ chính xác, độ mạnh và độ đặc hiệu.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần sợi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> bằng phương pháp CCID<sub>50</sub> được thực hiện đánh giá trên mẫu chuẩn Sởi (NIBSC) mã 92/648, có hàm lượng, hiệu giá trên nhãn là 4,3 log CCID<sub>50</sub>/ống và mẫu thử: vắc xin MMR<sup>II</sup> (MSD) mã S019172, hạn dùng 24/06/2021.

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

- Thời gian: từ tháng 03/2020 đến tháng 12/2020

- Địa điểm: phòng thí nghiệm của khoa Kiểm định Vắc xin Vi rút, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế.

### 2.3. Vật liệu, hóa chất

- Hóa chất: Môi trường nuôi cấy tế bào MEM 2% FBS (NICVB), môi trường nuôi cấy tế bào MEM 10% FBS (NICVB), dung dịch rửa tế bào PBS (NICVB), trypsin 0,25% EDTA (Gibco), kháng huyết thanh quai bị mã RWN0702A03 (NSX), kháng huyết thanh sởi mã RWN0704A04 (NSX), còn 70° (Việt Nam).

- Vật liệu: Tế bào VERO (NICVB) mọc kín một lớp trên phiến 96 giếng.

- Trang thiết bị và vật tư tiêu hao: Bể ôn nhiệt (Shellab), tủ an toàn sinh học (Nuair), máy lắc (IKA), tủ âm CO<sub>2</sub> (Sanyo), kính hiển vi (Olympus), pipet đơn kênh 20μL, 200μL, 1000μL (Eppendorf), pipet đa kênh tự động (Satorius), phiến 96 giếng nuôi tế bào (Corning), tuýp nhựa 2ml (Eppendorf), lamén (Đức), buồng đếm tế bào (Đức), đầu côn (Eppendorf), máng dùng 1 lần (Costar), pipet nhựa vô trùng (Costar), giấy dán phiến (Sigma Aldrich), bút viết kính (Việt Nam), giá đựng tuýp (Việt Nam), panh (Việt Nam), kéo (Việt Nam).

### 2.4. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp mô tả thực nghiệm trong phòng thí nghiệm. Thẩm định quy trình công hiệu thành phần sợi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> bằng phương pháp CCID<sub>50</sub>.

a. Tóm tắt quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần sợi trong vắc xin MMR<sup>II</sup>

Tế bào VERO được chuẩn bị trước 3-4 giờ ở nồng độ  $2 \times 10^5$ /mL, mỗi giếng của phiên 96 nhỏ 100 $\mu$ L và kháng huyết thanh được bất hoạt ở 56<sup>0</sup>C trong 30 phút trước khi tiến hành thử nghiệm. Dung dịch pha loãng (hỗn dịch kháng huyết thanh) bao gồm môi trường MEM 2% FBS và kháng huyết thanh quai bị với tỉ lệ 0,3:100. Vắc xin mẫu chuẩn và mẫu thử sau khi được hoàn nguyên với nước hồi chỉnh kèm theo rồi pha loãng bậc 4 (độ pha loãng từ  $10^{-1,0}$  đến  $10^{-5,2}$ ). Nhỏ 100 $\mu$ L/ giếng, mỗi nồng độ nhỏ 8 giếng trên 3 phiên chứa tế bào VERO đã chuẩn bị. Nhỏ 100 $\mu$ L/ giếng x 8 giếng môi trường MEM

2% FBS làm chứng tế bào và 100 $\mu$ L/ giếng x 8 giếng dung dịch pha loãng làm chứng huyết thanh đối với từng phiên 96 giếng. Ủ các phiên trong tủ ấm  $36 \pm 1^\circ\text{C} - 5\% \text{CO}_2$  trong 9 - 11 ngày rồi đọc kết quả các giếng chứng trước, các giếng chứng phải có tế bào kín đẹp và không bị hủy hoại (dấu hiệu hủy hoại là tế bào bị phá vỡ hình dạng, bong ra hoặc co tròn lại tạo khoảng trống trên mặt đáy phiên). Đếm số giếng tế bào bị hủy hoại với từng độ pha rồi tính kết quả theo công thức Karber hoặc Reed Muench trên phần mềm Excel.

$$\text{Log}_{10} \text{CCID}_{50}/0.1 \text{ mL} = X_0 + d. [\Sigma(C/N)-0.5]+ VF$$

Trong đó:  $X_0$  là độ pha loãng thấp nhất tế bào bị hủy hoại 100%

$d$  là bậc pha loãng

$C$  là số giếng tế bào bị hủy hoại (số giếng dương) còn lại

$N$  là tổng số giếng

$VF$  là hệ số thể tích ( $VF= 0,12$ )

Thử nghiệm công hiệu thành phần sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> có giá trị khi các giếng chứng tế bào mọc đẹp, không bị nhiễm nấm, vi khuẩn, công hiệu thành phần sởi nằm trong khoảng 3,8 - 4,2 log CCID<sub>50</sub>/liều, hiệu giá của vắc xin mẫu chuẩn trong thử nghiệm nằm trong khoảng  $\pm 0,5$  log giá trị hiệu giá vắc xin chuẩn trên nhãn [10].

b. Xác định độ đúng của quy trình thẩm định thử nghiệm công hiệu thành phần sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup>

Độ đúng được xác định bằng cách sử dụng mẫu chuẩn biết trước nồng độ, hàm lượng được thực hiện theo quy trình công hiệu của mẫu thử tối thiểu 6 lần vào 6 ngày khác nhau [11]. Sau khi tính nồng độ/hàm lượng trung bình của mẫu chuẩn tại mỗi độ pha

( $X_{tb}$ ), so sánh kết quả thu được với giá trị đã biết trước của mẫu chuẩn ( $X_{mc}$ ), tính  $t$  và so sánh với giá trị  $t_{\alpha}$  của bảng phân bố student tại mức ý nghĩa  $\alpha = 0,05$  (độ tin cậy 95%) [8]. Tiêu chuẩn chấp thuận khi  $t < t_{\alpha}$ .

$$t = \frac{|X_{tb} - X_{mc}|}{s/\sqrt{n}}$$

Trong đó:  $s$  - Độ lệch chuẩn  
 $n$  - Số thử nghiệm

c. Xác định độ chính xác của quy trình thẩm định thử nghiệm công hiệu thành phần sợi trong vắc xin MMR<sup>II</sup>

Độ chính xác đối với thử nghiệm được xác định tại hai mức: độ lặp lại và độ chính xác trung gian. Độ lặp lại được thực hiện 6 lần trong cùng một ngày bởi cùng một nhóm, cùng điều kiện trang thiết bị, hóa chất, nguyên liệu còn độ chính xác trung gian được thực hiện bởi cùng một nhóm trong 5 ngày khác nhau [11]. Tiêu chuẩn chấp thuận của tiêu chí độ chính xác của quy trình thẩm định là hiệu giá thành phần sợi nằm trong khoảng 3,8- 4,2 log CCID<sub>50</sub>/liều và hệ số biến thiên  $CV \leq 25\%$ .

d. Xác định độ mạnh của quy trình thẩm định thử nghiệm công hiệu thành phần sợi trong vắc xin MMR<sup>II</sup>

Độ mạnh của một quy trình được đánh giá bằng khả năng quy trình không bị ảnh hưởng bởi những thay đổi nhỏ trong các thông số của phương pháp và chỉ rõ độ tin

cậy của quy trình khi sử dụng bình thường. Một nhóm người thực hiện quy trình trên hai nhóm trang thiết bị khác nhau và trong 5 ngày khác nhau [11]. Tính kết quả công hiệu trung bình từng nhóm trang thiết bị rồi so sánh phương sai của hai nhóm trang thiết bị với bảng phân phối F với  $\alpha = 0,05$  theo công thức:  $F = \frac{MSB}{MSW}$  trong đó F - phép kiểm, MSB - trung bình bình phương giữa các nhóm, MSW - trung bình bình phương trong nội bộ nhóm. Tiêu chuẩn chấp thuận của tiêu chí độ mạnh là hiệu giá thành phần sợi nằm trong khoảng 3,8 - 4,2 log CCID<sub>50</sub>/liều và  $F < F_{\alpha}$  (trong bảng phân phối Fisher) tại mức ý nghĩa  $\alpha = 0,05$  (độ tin cậy 95%) [9].

e. Xác định độ đặc hiệu của quy trình thẩm định thử nghiệm công hiệu thành phần sợi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> [11]

Độ đặc hiệu của quy trình nhằm khẳng định có thành phần sợi trong vắc xin MMR<sup>II</sup>. Cách thiết kế thử nghiệm cho độ đặc hiệu được thực hiện bằng cách so sánh sự hủy hoại tế bào khi cho hỗn dịch vắc xin - kháng huyết thanh quai bị và kháng huyết thanh sợi đặc hiệu và chỉ cho vắc xin -kháng huyết thanh quai bị vào giếng tế bào trong 5 lần thực hiện. Tiêu chí đạt yêu cầu khi các giếng tế bào chứa hỗn dịch vắc xin - kháng huyết thanh quai bị và kháng huyết thanh

sởi làm giảm khả năng gây hủy hoại tế bào của vi rút.

### 3. Kết quả

Sau khi hoàn nguyên mẫu chuẩn và mẫu thử với nước hồi chính kèm theo, tiến hành pha loãng mẫu thử với dung dịch pha loãng MEM 2% FBS có chứa kháng huyết thanh quai bị và pha loãng mẫu chuẩn với dung dịch pha loãng MEM 2% FBS theo độ pha loãng bậc 4, gây nhiễm trên tế bào VERO, nuôi cấy ở  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  rồi đọc kết quả dưới kính hiển vi sau 9-11 ngày, các giếng đều không có sự xuất hiện của nấm hoặc khuẩn lạc, các giếng chứng tế bào và chứng

huyết thanh đều không có dấu hiệu bị hủy hoại. Từ đó, sử dụng phần mềm excel để tính các thông số như trung bình (GM), độ lệch chuẩn (SD), hệ số biến thiên (CV) để đánh giá các tiêu chí thẩm định quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> bằng phương pháp CCID<sub>50</sub>.

#### 3.1. Độ đúng

Độ đúng của thử nghiệm được tiến hành 6 lần vào 6 ngày khác nhau trên mẫu chuẩn Sởi có hiệu giá trên nhãn là 4,3 log CCID<sub>50</sub>. Kết quả công hiệu thành phần sởi được tổng hợp trong bảng dưới đây.

Lần thực hiện	Thời gian thực hiện	Hiệu giá mẫu chuẩn (log CCID <sub>50</sub> /ống)
Lần 1	02/06-13/06/2020	4,17
Lần 2	17/06-28/06/2020	4,20
Lần 3	07/07-18/07/2020	4,29
Lần 4	16/07-27/07/2020	4,16
Lần 5	03/08-14/08/2020	4,38
Lần 6	14/08-25/08/2020	4,39
GM		4,26

<b>SD</b>	<b>0,10</b>
<b>CV</b>	<b>2,43</b>

*Bảng 1. Kết quả tiêu chí độ đúng của quy trình thử nghiệm công hiệu vắc xin mẫu chuẩn Sởi*

Trong đó: GM (Geomean): Trung bình nhân.

SD (Standard Deviration): Độ lệch chuẩn.

CV (Coefficient of Variation): Hệ số biến thiên.

Dựa vào công thức, tính t sau 6 lần thực hiện thử nghiệm công hiệu đối với mẫu chuẩn Sởi, ta có kết quả như sau:

$$t = \frac{|Xtb - Xmc|}{s/\sqrt{n}} = \frac{|4,26 - 4,3|}{0,10/\sqrt{6}} = 0,98$$

Dựa vào bảng phân bố student tại độ tin cậy P=95%,  $t_{\alpha} = 2,447$  [8]. Vì vậy chúng tôi có thể kết luận độ đúng của thẩm định quy trình công hiệu thành phần sởi bằng phương pháp CCID<sub>50</sub> đạt yêu cầu với  $t < t_{\alpha}$ .

### 3.2. Độ chính xác

Độ chính xác của quy trình được xác định bởi độ lặp lại và độ chính xác trung gian. Đối với độ lặp lại, thử nghiệm công hiệu thành phần sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> được lặp lại 6 lần trong cùng một ngày có kết quả như sau:

<b>Lần thực hiện</b>	<b>Thời gian thực hiện</b>	<b>Hiệu giá mẫu thử (log CCID50/liều)</b>
<b>Lần 1</b>	19/08 - 30/08/2020	4,10
<b>Lần 2</b>	19/08 - 30/08/2020	3,95
<b>Lần 3</b>	19/08 - 30/08/2020	3,88

<b>Lần 4</b>	19/08 - 30/08/2020	3,96
<b>Lần 5</b>	19/08 - 30/08/2020	4,10
<b>Lần 6</b>	19/08 - 30/08/2020	3,93
<b>GM</b>		<b>3,99</b>
<b>SD</b>		<b>0,09</b>
<b>CV</b>		<b>2,31</b>

*Bảng 2. Kết quả tiêu chí độ lặp lại của quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần Sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup>*

Trong đó: GM (Geomean): Trung bình nhân

SD (Standard Deviation): Độ lệch chuẩn

CV (Coefficient of Variation): Hệ số biến thiên

Đối với độ chính xác trung gian, thử nghiệm được lặp lại 5 lần vào 5 ngày khác nhau và bởi cùng một nhóm thực hiện. Kết quả của 5 lần thực hiện được tóm tắt trong bảng dưới đây:

<b>Lần thực hiện</b>	<b>Thời gian thực hiện</b>	<b>Hiệu giá mẫu thử (log CCID<sub>50</sub>/ liều)</b>
<b>Lần 1</b>	02/06 - 13/06/2020	3,84
<b>Lần 2</b>	17/06 - 28/06/2020	4,03
<b>Lần 3</b>	07/07- 18/07/2020	3,95
<b>Lần 4</b>	16/07 - 27/07/2020	4,05
<b>Lần 5</b>	03/08 - 14/08/2020	3,93

<b>GM</b>	<b>3,96</b>
<b>SD</b>	<b>0,08</b>
<b>CV</b>	<b>2,13</b>

*Bảng 3. Kết quả tiêu chí độ chính xác trung gian của quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần Sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup>*

Trong đó: GM (Geomean): Trung bình nhân

SD (Standard Deviation): Độ lệch chuẩn

CV (Coefficient of Variation): Hệ số biến thiên

Độ lặp lại và độ chính xác trung gian đều có hệ số biến thiên  $CV \leq 25\%$ , hiệu giá thành phần sởi nằm trong khoảng 3,8- 4,2 log CCID<sub>50</sub>/ liều. Vì vậy, độ chính xác của quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần sởi sởi trong vắc xin sởi MMR<sup>II</sup> bằng phương pháp CCID<sub>50</sub> đạt yêu cầu.

### 3.3. Độ mạnh

Độ mạnh được thực hiện 5 lần bởi cùng một nhóm và 2 nhóm trang thiết bị khác nhau cho kết quả như sau:

<b>Lần thực hiện</b>	<b>Thời gian thực hiện</b>	<b>Hiệu giá nhóm 1 (log CCID<sub>50</sub>/ liều)</b>	<b>Hiệu giá nhóm 2 (log CCID<sub>50</sub>/ liều)</b>
<b>Lần 1</b>	02/06 - 13/06/2020	3,84	4,05
<b>Lần 2</b>	17/06 - 28/06/2020	4,03	4,00
<b>Lần 3</b>	07/07 - 18/07/2020	3,95	3,88
<b>Lần 4</b>	16/07 - 27/07/2020	4,05	3,93
<b>Lần 5</b>	03/08 - 14/08/2020	3,93	4,10
<b>GM</b>		<b>3,96</b>	<b>3,99</b>
<b>SD</b>		<b>0,08</b>	<b>0,09</b>
<b>CV</b>		<b>2,13</b>	<b>2,22</b>
<b>S<sup>2</sup></b>		<b>S<sup>1</sup><sup>2</sup>= 0,0284</b>	<b>S<sup>2</sup><sup>2</sup>= 0,0315</b>
<b>MSB</b>		<b>0,0256</b>	
<b>MSW</b>		<b>0,0199</b>	

**Bảng 4. Kết quả tiêu chí độ mạnh của quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần sợi trong vắc xin MMR<sup>II</sup>**

Trong đó: GM (Geomean): Trung bình nhân

SD (Standard Deviation): Độ lệch chuẩn

CV (Coefficient of Variation): Hệ số biến thiên

S<sup>2</sup>: Phương sai

MSB (Mean squares between-groups): Trung bình bình phương giữa các nhóm

MSW (Mean squares within-groups): Trung bình bình phương trong nội bộ nhóm

Từ công thức, phép kiểm F được tính như sau:  $F = \frac{MSB}{MSW} = \frac{0,0256}{0,0199} = 1,1084$

So sánh với bảng phân phối F tại  $\alpha = 0,05$ , ta có:  $F_{\alpha} = 17,44 > F = 1,1084$  [9]. Từ đó, chúng tôi có thể kết luận độ mạnh của quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần sợi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> đạt yêu cầu.

### 3.4. Độ đặc hiệu

Thử nghiệm công hiệu thành phần sợi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> được thiết kế cho độ đặc hiệu bằng cách bổ sung kháng huyết thanh sợi vào dung dịch pha loãng gồm môi trường MEM 2% FBS và kháng huyết thanh quai bị với tỉ lệ 0,3:100. Sau đó thực hiện 5 lần song song các thao tác như quy trình công hiệu thông thường rồi so sánh kết quả các giếng tế bào ở cùng độ pha 10<sup>-2,8</sup>.

Lần thực hiện	Thời gian thực hiện	Tỉ lệ hủy hoại các giếng không chứa KHT Sởi	Tỉ lệ hủy hoại các giếng chứa KHT Sởi
Lần 1	02/06 - 13/06/2020	100%	75%
Lần 2	17/06 - 28/06/2020	100%	62,5%
Lần 3	07/07 - 18/07/2020	100%	62,5%
Lần 4	16/07 - 27/07/2020	100%	75%
Lần 5	03/08 - 14/08/2020	100%	62,5%
<b>Trung bình</b>		100%	67,5%

**Bảng 5. Kết quả tiêu chí độ đặc hiệu của quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần sợi trong vắc xin MMR<sup>II</sup>**

Từ kết quả trên, ở cùng một độ pha, tỉ lệ hủy hoại tế bào ở các giếng có chứa kháng huyết thanh sợi giảm do vi rút sợi có trong vắc xin được trung hòa bởi kháng huyết thanh sợi đặc

hiệu. Vì vậy, độ đặc hiệu của quy trình thử nghiệm thành phần sởi của vắc xin MMR<sup>II</sup> đạt yêu cầu.

#### 4. Bàn luận

Thử nghiệm công hiệu thành phần sởi nhằm xác định hiệu giá của vi rút sởi có trong sản phẩm để tạo miễn dịch cho đối tượng sử dụng. Đó là một trong những tiêu chí kỹ thuật quan trọng để cơ quan quản lí và kiểm soát chất lượng đánh giá sản phẩm trước và sau khi cấp số lưu hành sản phẩm. Thẩm định quy trình công hiệu vắc xin MMR<sup>II</sup> cho thấy sự ổn định về mặt chất lượng của thành phần sởi trên cả mẫu chuẩn và mẫu thử.

Mẫu chuẩn sởi (NIBSC) mã 92/648 được đóng dạng bột nén màu trắng trong ống ampoule, có hiệu giá trên nhãn là 4,3 log CCID<sub>50</sub> [10]. Độ đúng của một quy trình thể hiện sự gần trùng hợp giữa giá trị tìm được với một giá trị thực quy ước hoặc một giá trị đối chiếu được chấp nhận [11]. Độ đúng của thử nghiệm được thực hiện 6 lần với mẫu chuẩn cho kết quả nằm trong khoảng 4,16 - 4,39 log CCID<sub>50</sub>, nằm trong khoảng  $\pm 0,5$  log CCID<sub>50</sub> so với hiệu giá trên nhãn (4,3 log CCID<sub>50</sub>) và hệ số biến thiên thấp CV = 2,43%. Giá trị t của thử nghiệm  $t = 0,98$ , khi so sánh với  $t_{\alpha} = 2,447$  trong bảng phân phối student tại  $\alpha = 0,05$  (độ tin cậy 95%) [8],  $t < t_{\alpha}$ . Vì vậy, độ đúng của thử nghiệm đạt tiêu chuẩn chấp thuận của quy trình thẩm định.

MMR<sup>II</sup> là vắc xin phối hợp phòng chống Sởi - Quai bị - Rubella được đóng gói ở dạng bột nén màu trắng, đông khô và có nước hồi chỉnh kèm theo, bảo quản ở nhiệt độ 2 - 8°C, có hiệu giá thành phần sởi nằm trong khoảng 3,8 - 4,2 log CCID<sub>50</sub> [7]. Độ chính xác đối với thử nghiệm được xác định tại hai mức: độ lặp lại và độ chính xác trung gian nhằm đánh giá mức độ thống nhất giữa các kết quả thử nghiệm riêng rẽ [11]. Đối với tiêu chí độ lặp lại, qua 6 lần thử nghiệm được làm trong cùng một ngày bởi cùng một nhóm thực hiện, giá trị công hiệu thu được nhỏ nhất là 3,88 log CCID<sub>50</sub>/liều và lớn nhất là 4,10 log CCID<sub>50</sub>/liều, hệ số biến thiên CV = 2,31%, thấp hơn tiêu chuẩn đề ra là CV  $\leq 25\%$ . Đối với tiêu chí độ chính xác trung gian, qua 6 lần thử nghiệm được làm vào 6 ngày khác nhau bởi cùng một nhóm thực hiện, giá trị công hiệu trong khoảng từ 3,84 - 4,05 log CCID<sub>50</sub>/liều. Hệ số biến thiên CV của các giá trị trong 6 lần làm = 2,13%, vẫn đạt trong ngưỡng cho phép của tiêu chí đề ra (CV  $\leq 25\%$ ). Từ đó, độ chính xác của quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> đạt tiêu chuẩn chấp thuận.

Độ mạnh là khả năng của quy trình tạo ra những kết quả phân tích có độ chính xác và độ đúng chấp nhận được trong các điều kiện khác nhau [11]. Độ mạnh của quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> được thực hiện bởi cùng một nhóm với hai nhóm trang thiết bị khác nhau cho kết quả phương sai  $S_1^2 = 0,0284$  và  $S_2^2 = 0,0315$ . Phép kiểm F của quy trình  $F = 1,1084 < F_{\alpha} = 17,44$  (trong bảng phân phối F- Fisher) với  $\alpha = 0,05$  (độ tin cậy  $P = 95\%$ ) [9]. Như vậy, không có sự chênh lệch, khác biệt mang ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm trang thiết bị khác nhau và độ mạnh của quy trình đạt yêu cầu.

Khi có sự xuất hiện của kháng huyết thanh sởi đặc hiệu, tỉ lệ giếng bị hủy hoại tế bào trung bình giảm từ 100% xuống 67,5% ở cùng độ pha  $10^{-2,8}$  trong 5 lần thực hiện thử nghiệm công hiệu thành phần sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> bằng phương pháp CCID<sub>50</sub> chứng tỏ kháng huyết thanh sởi đã trung hòa lượng vi rút sởi có trong vắc xin, dẫn đến sự hủy hoại tế bào giảm đi so với giếng tế bào không chứa kháng huyết thanh sởi đặc hiệu. Do đó, tiêu chí độ đặc hiệu của quy trình đạt yêu cầu.

## 5. Kết luận

Các tiêu chí độ đúng, độ chính xác, độ mạnh và độ đặc hiệu của thẩm định quy trình thử

nghiệm công hiệu thành phần sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> bằng phương pháp CCID<sub>50</sub> đều đạt yêu cầu với hệ số biến thiên  $CV \leq 25\%$ , hiệu giá của thành phần sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> từng lần thực hiện nằm trong khoảng cho phép 3,8 - 4,2 log CCID<sub>50</sub> /liều theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất. Quy trình thử nghiệm công hiệu thành phần sởi trong vắc xin MMR<sup>II</sup> bằng phương pháp CCID<sub>50</sub> phù hợp với điều kiện, hóa chất và trang thiết bị tại khoa Kiểm định Vắc xin Vi rút, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế.

## Tài liệu tham khảo

- [1] WHO, News room [Internet]. Measles, 5 Dec 2019. Available at: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/measles>
- [2] Centers for Disease Control and Prevention (CDC) [Internet]. Measles, for Healthcare providers. Available at: <https://www.cdc.gov/measles/hcp/index.html>
- [3] Bernard Kaic, Goran Tesovic. Measles outbreak: a warning sign of troubles ahead, Pubmed, NIH, Oct 2019; 60 (5): 393-396. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6852145/>
- [4] Paul AG. Measles in the 21<sup>st</sup> century: Progress Toward achieving and sustaining elimination, The Journal of Infectious diseases,

volume 224, 420-428. Sep 2021. Available at:

[https://academic.oup.com/jid/article/224/Supplement\\_4/S420/6378081](https://academic.oup.com/jid/article/224/Supplement_4/S420/6378081)

[5] WHO, news [Internet]. Measles control in Vietnam, 25 April 2014. Available at:

<https://www.who.int/vietnam/news/feature-stories/detail/measles-control-in-viet-nam>

[6] David H.S, Jorge M.A, Huyen D.T.T, Van T.T.T, Cuong N.V, Jean M.O, Kohei T, Hien N.T. Epidemiology of a Measles Epidemic in Vietnam 2008-2010, the journal of Infectious Diseases, volume 204, 476-482, July 2011.

Available at:

[https://academic.oup.com/jid/article/204/suppl\\_1/S476/2192849](https://academic.oup.com/jid/article/204/suppl_1/S476/2192849)

[7] MIMS [Internet]. MMR II vaccine, MSD.

Full prescribing info. Available at:

<https://www.mims.com/singapore/drug/info/m-m-r%20ii?type=full>

[8] Bảng phân phối t- student [Internet].

Available at: [https://verbalearn.com/kinh-te-](https://verbalearn.com/kinh-te-hoc/phan-phoi-student/)

[hoc/phan-phoi-student/](https://verbalearn.com/kinh-te-hoc/phan-phoi-student/)

[9] Bảng phân phối phép kiểm F (Fisher) cho phương sai [Internet]. Available at:

<https://www.vietlod.com/data/bang-tra-phan-phoi-f-f-distribution-table.pdf>

[10] VR08-03: SOP: Quy trình chuẩn thử nghiệm công hiệu vắc xin MMR II, NICVB

[11] KĐQG-34: SOP: Quy trình chuẩn thẩm định quy trình, NICVB