

## DETERMINATION OF OVALBUMIN CONTENTS BY ELISA METHODS

**Nguyen Huy Binh<sup>1</sup>, Luu Thi Dung<sup>2\*</sup>, Nguyen Thi Ly<sup>2</sup>, Nguyen Thi Hong Dinh<sup>2</sup>,  
Pham Van Hung<sup>2</sup>, Nguyen Hoang Tung<sup>2</sup>, Doan Huu Thien<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Hanoi Medical University

<sup>2</sup>National Institute for Control of Vaccine and Biologicals

Received 5 October 2022

Accepted 20 November 2022

### Abstract

Determination of Ovalbumin content in vaccines produced by egg embryo culture technology such as influenza vaccines is a mandatory criterion before marketing. The concentration of Ovalbumin in the vaccine allowed according to WHO recommendations and manufacturer registration standards is not more than 1µg/0.5 ml. According to the regulations of vaccines and biologicals, pre-tests as standard methods must be validated according to the ISO 17025:2015. The method is in-vitro experimental descriptive study. The procedure was validated using the ELISA method with the Serazym Ovalbumin kit (Seramun Diagnostica GmbH, Germany) for criteria including accuracy, precision, and linearity. In which, the results are respectively accuracy ( $t(-0,81-1,77) < t_{\alpha} = 2.571$ ), precision (%CV=0,82-2,56%), linearity( $R^2(0,998) > 0,95$ , % CV (0,05-5,12)  $\leq 20\%$  and  $\Delta i(-5,07-3,84)$  is within  $\pm 15\%$  of the theoretical value. The research results show that the criteria of accuracy, precision and linearity of the method are satisfactory and that the standard procedure is used as a routine method in testing.

**Keywords:** *precision, accuracy, linearity, Ovalbumin, Elisa*

---

\* Corresponding author

E-mail address: [dungluuthi.nicvb@gmail.com](mailto:dungluuthi.nicvb@gmail.com)

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i4.60>

## XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG OVALBUMIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP ELISA

Nguyễn Huy Bình<sup>1</sup>, Lưu Thị Dung<sup>2\*</sup>, Nguyễn Thị Lý<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Hồng Định<sup>2</sup>, Phạm Văn Hùng<sup>2</sup>,  
Nguyễn Hoàng Tùng<sup>2</sup>, Đoàn Hữu Thiển<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Đại học Y Hà Nội

<sup>2</sup>Viện kiểm định Quốc gia vắc xin và Sinh phẩm y tế

Nhận ngày 5 tháng 10 năm 2022

Chấp nhận đăng ngày 20 tháng 11 năm 2022

### Tóm tắt

Xác định hàm lượng Ovalbumin trong các vắc xin được sản xuất bằng công nghệ nuôi cấy trên phôi trứng như vắc xin cúm là tiêu chí bắt buộc trước khi lưu hành. Hàm lượng Ovalbumin tồn dư trong vắc xin cho phép theo khuyến cáo của WHO và tiêu chuẩn đăng ký nhà sản xuất không  $\leq 1\mu\text{g}/0,5\text{ ml}$ . Theo quy định của Cơ quan Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế, các thử nghiệm trước khi áp dụng là phương pháp chuẩn thức phải được thẩm định quy trình theo qui định ISO 17025:2015. Nghiên cứu sử dụng phương pháp mô tả thực nghiệm in vitro. Kết quả của nghiên cứu đã thẩm định quy trình xác định hàm lượng Ovalbumin sử dụng phương pháp ELISA với bộ kit Serazym Ovalbumin (Seramun Diagnostica GmbH, Đức) cho các tiêu chí bao gồm độ đúng, tính chính xác, tính tuyến tính. Trong đó, kết quả lần lượt là độ đúng ( $t(-0,81-1,77) < t_{\alpha} = 2.571$ ), tính chính xác (%CV = 0,82-2,56%), tính tuyến tính ( $R^2(0,998) > 0,95$ , % CV (0,05-5,12)  $\leq 20\%$ ,  $\Delta i(-5,07-3,84)$  nằm trong khoảng  $\pm 15\%$  so với giá trị lý thuyết. Kết quả nghiên cứu cho thấy các tiêu chí về độ đúng, tính chính xác và tính tuyến tính của phương pháp đều đạt yêu cầu và quy trình đạt tiêu chuẩn để sử dụng là phương pháp thường quy trong công tác kiểm nghiệm.

*Từ khóa: độ đúng, chính xác, tuyến tính, Ovalbumin, Elisa*

## 1. Đặt vấn đề

Một số vắc xin chủng ngừa cúm 2009–2010 cho thấy mỗi liều có thể chứa tới 1  $\mu\text{g}$  Ovalbumin. Hàm lượng Ovalbumin của vắc xin cúm rất quan trọng nếu những vắc xin này được sử dụng cho những bệnh nhân bị dị ứng với trứng. Trong một nghiên cứu đã tiến hành việc xây dựng quy trình xác định hàm lượng của protein này sử dụng vắc xin cúm cho những bệnh nhân bị dị ứng với trứng khi hàm lượng Ovalbumin của vắc xin này chưa được biết rõ [1, 6, 9].

Nghiên cứu trước đây về vắc xin cúm theo mùa cho thấy sự thay đổi đáng kể về hàm lượng Ovalbumin giữa các vắc xin của các nhà sản xuất khác nhau [2-5]. Các nhà sản xuất vắc xin và các cơ quan quản lý chất lượng cần phát triển các quy trình để kiểm soát được hàm lượng Ovalbumin trong các mẫu vắc xin thành phẩm [9]. Hiện tại ELISA được coi là phương pháp hiệu quả được phát triển để xác định hàm lượng ở nồng độ có khả năng đo nồng độ Ovalbumin thấp đến 0,19 ng/ml. [6]. Vì vậy, nhóm nghiên cứu lựa chọn phương pháp ELISA để tiến hành thẩm định quy trình các thông số kỹ thuật về độ đúng, tính chính xác và tính tuyến tính đối với vắc xin thử nghiệm (vắc xin cúm Ivacflu- S). Từ các kết quả thu

được để xem xét đánh giá đưa quy trình thử nghiệm xác định hàm lượng Ovalbumin phục vụ công tác kiểm định vắc xin tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB) [7-9].

## 2. Phương pháp nghiên cứu

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

Đối tượng nghiên cứu: Vắc xin cúm Influvac-S

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 06/2017 đến tháng 12/2017

Địa điểm nghiên cứu: Khoa Kiểm định Vắc xin vi Rút, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế

### 2.2 Vật liệu, hóa chất

- Bộ sinh phẩm chuẩn đoán Ovalbumin kit 96 giếng (Serazym® Ovalbumin), Hãng sản xuất: Seramun Diagnostica GmbH (Đức), Loạt E041C-1-18-05-17, Hạn sử dụng 31/05/2019
- Mẫu chuẩn Ovalbumin: 0,625 ng/ml; 1,25 ng/ml; 2,5 ng/ml; 5 ng/ml; 10 ng/ml
- Mẫu vắc xin Ivacflu-S, Loạt: 004-01-16, Hạn sử dụng: 05/12/2017
- Nước cất, NICVB

2.3. Thiết kế nghiên cứu và quy trình thực hiện

2.3.1 Thiết kế nghiên cứu

| TT                | Độ đúng                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Tính chính xác                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Độ tuyến tính                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Bố trí thử nghiệm | <p>Xác định hàm lượng Ovalbumin của 5 dung dịch mẫu chuẩn có hàm lượng lần lượt: 0,625 ng/ml; 1,25 ng/ml; 2,5 ng/ml; 5 ng/ml; 10 ng/ml</p> <p>Thử nghiệm được thực hiện bởi cùng 1 nhóm thực hiện, trong cùng điều kiện trang thiết bị, hóa chất, nguyên vật liệu</p> <p>Thực hiện thử nghiệm 6 lần vào 6 ngày khác nhau, mỗi giếng thử nghiệm được lặp lại 2 lần.</p> | <p>Xác định hàm lượng Ovalbumin trong mẫu vắc xin thử nghiệm: Vắc xin mẫu thử được pha loãng 03 độ pha: 1/100; 1/200; 1/300 nằm trong khoảng nồng độ của đường chuẩn.</p> <p>Thử nghiệm được thực hiện bởi cùng 1 nhóm thực hiện, trong cùng điều kiện trang thiết bị, hóa chất, nguyên vật liệu</p> <p>Thực hiện thử nghiệm 6 lần vào cùng 1 ngày và 6 ngày, mỗi giếng thử nghiệm được lặp lại 2 lần.</p> | <p>Xác định hàm lượng Ovalbumin của 5 dung dịch mẫu chuẩn có hàm lượng lần lượt: 0,625 ng/ml; 1,25 ng/ml; 2,5 ng/ml; 5 ng/ml; 10 ng/ml</p> <p>Thử nghiệm được thực hiện bởi cùng 1 nhóm thực hiện, trong cùng điều kiện trang thiết bị, hóa chất, nguyên vật liệu</p> <p>Thực hiện thử nghiệm 6 lần vào 6 ngày khác nhau, mỗi giếng thử nghiệm được lặp lại 2 lần.</p> |
| Phương            | <p>Tính hàm lượng Ovalbumin của mẫu chuẩn tại mỗi nồng độ ở 6 lần thử nghiệm vào 6 ngày khác nhau</p> <p>Tính hàm lượng Ovalbumin trung bình của mẫu chuẩn tại mỗi nồng độ (Xtb)</p> $tb = \sum C_i/n$                                                                                                                                                                 | <p>Xác định hàm lượng Ovalbumin trong mẫu vắc xin thử nghiệm lặp lại 6 lần trong cùng 1 ngày.</p> <p>Tính giá trị trung bình của mẫu thử, SD và %CV</p>                                                                                                                                                                                                                                                    | <p>Tính giá trị đường hồi quy tuyến tính R của từng ngày thử nghiệm.</p> <p>Tính giá trị trung bình, SD và %CV của từng ngày thử nghiệm.</p> <p>Tính độ thu hồi tại mỗi điểm chuẩn (<math>\Delta i</math>)</p>                                                                                                                                                         |

| TT                      | Độ đúng                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Tính chính xác | Độ tuyến tính                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| pháp<br>tính kết<br>quả | <p>Trong đó : <math>C_i</math>: hàm lượng Ovalbumin trong mẫu</p> <p><math>n</math>: số lần thực hiện</p> <p>+ SD: độ lệch chuẩn</p> <p>+ %CV = <math>SD/X_{tb} \times 100\%</math></p> <p>Tính và so sánh kết quả hàm lượng Ovalbumin thu được với giá trị đã biết trước của mẫu chuẩn tại mỗi nồng độ bằng cách tính <math>t</math>. Sau đó so sánh <math>t</math> với giá trị <math>t_\alpha</math> của bảng phân bố student tại mức ý nghĩa <math>\alpha = 0,05</math> tức với độ tin cậy 95%.</p> $t = \frac{X_{tb} - x_{mc}}{s / \sqrt{n}}$ <p><u>Trong đó:-</u> <math>s</math>: độ lệch chuẩn</p> <p>- <math>n</math>: số thử nghiệm</p> |                | $\Delta_i = \left  \frac{C_t - C_c}{C_c} \right  \times 100$ <p>Trong đó: <math>\Delta_i</math>: độ chệch của các điểm chuẩn</p> <p><math>C_t</math>: hàm lượng tính được của các điểm chuẩn</p> <p><math>C_c</math>: hàm lượng lý thuyết của các điểm chuẩn</p> |

### 2.3.2 Quy trình thực hiện

- Để bộ sinh phẩm chẩn đoán Serazym® Ovalbumin ở nhiệt độ phòng khoảng 30 phút trước khi tiến hành. Pha loãng mẫu sao cho có hàm lượng nằm trong giới hạn phát hiện của bộ sinh phẩm (0,31 - 20 ng/ml).

- Thêm 100  $\mu$ l dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng. Thêm 100  $\mu$ l mẫu vào các giếng M mỗi nồng độ lặp lại 2 giếng. Thêm 100  $\mu$ l

chuẩn (S1-S7 đã có sẵn của bộ kit sinh phẩm) và Ovalbumin chứng dương (+), mỗi loại lặp lại 2 giếng. Dán phiến lại và ủ trong 60 phút ở 37°C (bằng máy ủ phiến). Rửa phiến 5 lần bằng dung dịch rửa: 300  $\mu$ l/giếng/lần rửa.

- Thêm vào mỗi giếng 100  $\mu$ l dung dịch Substrate (TMB (3,3',5,5' - tetramethylbenzidine) và Hydrogen

Peroxide). Ủ 10 phút trong bóng tối ở nhiệt độ phòng. Thêm 100 µl dung dịch Stop (axit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,25M), dung dịch chuyển màu vàng.

- Đọc kết quả trên máy đọc ELISA ở bước sóng 450 nm trong vòng 30 phút

3. Kết quả

3.1 Kết quả đánh giá độ đúng

Bảng 3.1 Hàm lượng Ovalbumin của chất chuẩn

| Hàm lượng chất chuẩn (ng/ml) | Hàm lượng Ovalbumin của chất chuẩn (ng/ml) |        |        |        |        |        |      | SD   | % CV | t     |
|------------------------------|--------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|------|------|------|-------|
|                              | Ngày 1                                     | Ngày 2 | Ngày 3 | Ngày 4 | Ngày 5 | Ngày 6 | TB   |      |      |       |
| 10,00                        | 9,94                                       | 9,96   | 10,29  | 9,80   | 9,84   | 9,80   | 9,94 | 0,19 | 1,88 | -0,81 |
| 5,00                         | 4,88                                       | 5,12   | 5,15   | 5,11   | 4,80   | 5,01   | 5,01 | 0,14 | 2,82 | 0,19  |
| 2,50                         | 2,58                                       | 2,59   | 2,45   | 2,55   | 2,49   | 2,58   | 2,54 | 0,05 | 2,12 | 1,77  |
| 1,25                         | 1,25                                       | 1,23   | 1,26   | 1,28   | 1,22   | 1,28   | 1,25 | 0,02 | 1,95 | 0,38  |
| 0,625                        | 0,61                                       | 0,62   | 0,65   | 0,63   | 0,59   | 0,65   | 0,62 | 0,02 | 3,53 | -0,16 |

Bảng 3.1 cho thấy kết quả đánh giá độ đúng của quy trình được tiến hành trên các mẫu chuẩn của bộ sinh phẩm để xác định lại giá trị thu hồi và tính toán thống kê so sánh kết quả hàm lượng Ovalbumin thu được với giá trị đã biết trước của mẫu chuẩn tại mỗi nồng độ bằng cách tính theo hàm t. Sau đó so sánh t với giá trị t<sub>α</sub> của bảng phân bố student tại mức ý nghĩa α = 0,05 tức với độ tin cậy 95%. Kết quả thu được với %CV ≤ 5%. Trong đó t - bảng t (-0,81- 1,77) < t<sub>α</sub> = 2.571 là đạt tiêu chuẩn cho độ đúng nên quy trình thẩm định được đánh giá đạt yêu cầu về độ đúng.

3.2 Kết quả đánh giá tính chính xác

Bảng 3.2. Hàm lượng Ovalbumin của mẫu vắc xin Ivacflu-S

| Lần/ngày thực hiện | Tính chính xác (ng/ml) |                           |
|--------------------|------------------------|---------------------------|
|                    | Độ lặp lại             | Tính chính xác trung gian |
| 1                  | 631,26                 | 631,26                    |
| 2                  | 627,44                 | 608,95                    |
| 3                  | 638,16                 | 627,36                    |
| 4                  | 637,95                 | 599,08                    |
| 5                  | 641,44                 | 591,85                    |

|            |             |              |
|------------|-------------|--------------|
| 6          | 638,02      | 605,25       |
| Trung bình | 635,71      | 610,63       |
| SD         | 5,24        | <b>15,64</b> |
| %CV        | <b>0,82</b> | <b>2,56</b>  |

Bảng 3.2 cho thấy kết quả đánh giá tính chính xác của quy trình khi được tiến hành thử nghiệm với vắc xin thử nghiệm Ivacflu-S. Kết quả cho thấy với 6 lần thử nghiệm khác nhau trong cùng một ngày (độ lặp lại) và 6 lần thử nghiệm khác nhau vào các ngày khác nhau (độ chính xác trung gian) đều cho kết quả % CV (0,82-2,56%) <10% đạt tiêu chí chấp thuận cho tính chính xác. Do vậy quy trình được đánh giá là đạt yêu cầu về độ chính xác.

### 3.3 Tính tuyến tính

**Bảng 3.3 Hệ số tương quan  $R^2$  và % CV tại mỗi điểm thuộc đường chuẩn**

| Hàm lượng chất chuẩn (ng/ml) | OD (450 nm) |        |        |        |        |        | Trung bình   | SD           | % CV        |
|------------------------------|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------------|--------------|-------------|
|                              | Ngày 1      | Ngày 2 | Ngày 3 | Ngày 4 | Ngày 5 | Ngày 6 |              |              |             |
| <b>10,00</b>                 | 2,52        | 2,51   | 2,55   | 2,59   | 2,55   | 2,62   | <b>2,56</b>  | <b>0,04</b>  | <b>1,64</b> |
| <b>5,00</b>                  | 1,25        | 1,34   | 1,37   | 1,34   | 1,37   | 1,36   | <b>1,34</b>  | <b>0,05</b>  | <b>3,50</b> |
| <b>2,50</b>                  | 0,74        | 0,75   | 0,78   | 0,77   | 0,78   | 0,78   | <b>0,77</b>  | <b>0,02</b>  | <b>2,22</b> |
| <b>1,25</b>                  | 0,38        | 0,36   | 0,37   | 0,38   | 0,37   | 0,36   | <b>0,37</b>  | <b>0,01</b>  | <b>2,89</b> |
| <b>0,625</b>                 | 0,19        | 0,20   | 0,21   | 0,22   | 0,21   | 0,22   | <b>0,21</b>  | <b>0,01</b>  | <b>5,12</b> |
| $R^2$                        | 0,998       | 0,998  | 0,997  | 0,998  | 0,997  | 0,998  | <b>0,998</b> | <b>0,001</b> | <b>0,05</b> |

**Bảng 3.4 Độ chệch  $\Delta_i$  của các điểm chuẩn**

| $C_c$ (ng)   | Ngày 1     |              | Ngày 2     |              | Ngày 3     |              | Ngày 4     |              | Ngày 5     |              | Ngày 6     |              |
|--------------|------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|
|              | $C_t$ (ng) | $\Delta_i$ % | $C_t$ (ng) | $\Delta_i$ % | $C_t$ (ng) | $\Delta_i$ % | $C_t$ (ng) | $\Delta_i$ % | $C_t$ (ng) | $\Delta_i$ % | $C_t$ (ng) | $\Delta_i$ % |
| <b>10,00</b> | 9,94       | <b>-0,63</b> | 9,96       | <b>-0,37</b> | 10,29      | <b>2,92</b>  | 9,80       | <b>2,01</b>  | 9,84       | <b>-1,57</b> | 9,80       | <b>-2,03</b> |
| <b>5,00</b>  | 4,88       | <b>-2,40</b> | 5,12       | <b>2,42</b>  | 5,15       | <b>2,98</b>  | 5,11       | <b>2,11</b>  | 4,80       | <b>-3,92</b> | 5,01       | <b>0,10</b>  |
| <b>2,50</b>  | 2,58       | <b>3,04</b>  | 2,59       | <b>3,44</b>  | 2,45       | <b>1,81</b>  | 2,55       | <b>1,84</b>  | 2,49       | <b>-0,33</b> | 2,58       | <b>3,13</b>  |

|              |      |              |      |              |      |             |      |             |      |              |      |             |
|--------------|------|--------------|------|--------------|------|-------------|------|-------------|------|--------------|------|-------------|
| <b>1,25</b>  | 1,25 | <b>-0,25</b> | 1,23 | <b>-1,24</b> | 1,26 | <b>0,91</b> | 1,28 | <b>2,66</b> | 1,22 | <b>-2,39</b> | 1,28 | <b>2,11</b> |
| <b>0,625</b> | 0,61 | <b>-2,73</b> | 0,62 | <b>-1,20</b> | 0,65 | <b>3,84</b> | 0,63 | <b>0,16</b> | 0,59 | <b>-5,07</b> | 0,65 | <b>3,61</b> |

Bảng 3.3 và bảng 3.4 cho thấy kết quả đánh giá tính tuyến tính của quy trình thử nghiệm. Kết quả cho thấy giá trị đường hồi quy tuyến tính R và %CV của từng ngày thử nghiệm đều đạt yêu cầu. Cụ thể là  $R^2 (0,998) > 0,95\%$ ,  $CV (0,05-5,12) \leq 20\%$ ,  $\Delta_i (-5,07- 3,84)$  nằm trong khoảng  $\pm 15\%$  so với giá trị lý thuyết. Do vậy, quy trình đạt yêu cầu về tính tuyến tính.

#### 4. Bàn luận

Nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện tuân thủ theo thiết kế nghiên cứu khi tiến hành thẩm định quy trình các thông số kỹ thuật để xác định hàm lượng Ovalbumin trong vắc xin cúm. Trong đó, các kết quả đều cho thấy quy trình sử dụng bộ sinh phẩm và vắc xin mẫu thử được sử dụng trong nghiên cứu phù hợp và xác định được hàm lượng Ovalbumin trong mẫu chuẩn và mẫu thử. Qua đó, kết quả hàm lượng Ovalbumin của vắc xin mẫu thử được tính toán dựa vào đường chuẩn của chất chuẩn đo được trong cùng một cùng một lần thử nghiệm và vào các thời điểm khác nhau bằng phần mềm Excel. Đây là phương pháp phổ biến được sử dụng phổ biến để xác định hàm lượng Ovalbumin trong nhiều nghiên cứu khác [6].

Một nghiên cứu của Kirk H Waibel, Robert Gomez và các cộng sự được thực hiện trong việc xác định hàm lượng

Ovalbumin. Trong đó, các lô vắc xin cúm mùa và H1N1 từ các nhà cung cấp khác nhau đã được thu thập từ một số phòng khám trên khắp Hoa Kỳ và Nhật Bản [6]. Phương pháp được triển khai thực hiện trong nghiên cứu này Elisa cũng sử dụng là phương pháp xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzyme để phát hiện Ovalbumin trong các mẫu sinh học. Kết quả thu được nồng độ Ovalbumin trung bình của vắc xin theo mùa là 350 ng/ml (0,5–1,02). Nồng độ Ovalbumin trung bình của vắc xin H1N1 là 21 ng/ml (<1–76). Một loại vắc xin cúm theo mùa (Fluzone, Sanofi Pasteur) cho thấy hàm lượng cao hơn so với các loại vắc xin cúm theo mùa khác. Tương tự như vậy, một loại vắc xin H1N1 (Sanofi Pasteur) cho thấy hàm lượng cao hơn so với các loại vắc xin H1N1 khác. Qua đó cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa các lô đối với 2 vắc xin Sanofi Pasteur. Hai mẫu vắc-xin cúm theo mùa vi

rút sống giảm độc lực trong mũi (Flumist) chứa ít hơn 1 ng/ml Ovalbumin [6].

Trong nghiên cứu trên, việc đo hàm lượng Ovalbumin trong vắc xin cúm mùa và cúm H1N1 có thể dẫn đến việc sử dụng các loại vắc xin này an toàn hơn cho những bệnh nhân bị dị ứng trứng. Có thể lựa chọn lô vắc xin có hàm lượng Ovalbumin thấp cho bệnh nhân dị ứng trứng; có thể tránh được các lô vắc xin có hàm lượng Ovalbumin cao. Tất cả các lô vắc xin H1N1 được thử nghiệm đều cho thấy mức Ovalbumin thấp (lên đến 76 ng/ml trong nghiên cứu của chúng tôi, lên đến 64 ng/ml trong nghiên cứu Waibel) [4, 6]. Những loại vắc xin này có thể được sử dụng một cách an toàn cho những bệnh nhân bị dị ứng với trứng, nhưng cần phải có thêm những bằng chứng trên lâm sàng. Có thể là tất cả các vắc xin theo mùa đều có hàm lượng Ovalbumin đủ thấp để sử dụng an toàn cho bệnh nhân dị ứng với trứng. Tuy nhiên, với nồng độ Ovalbumin cao hơn trong một số vắc xin theo mùa (tăng từ 1002 ng/ml trong nghiên cứu của chúng tôi, lên đến 1421 ng/ml trong nghiên cứu Waibel), cần thận trọng [4,6]. Hơn nữa, với nhà sản xuất thì số lượng lô hàng thay đổi hàng năm, phép đo hàm lượng Ovalbumin của mỗi lô sản xuất sẽ cũng cần được kiểm soát trước khi lưu

hành. Theo kết quả của Waibel và Gomez, vắc xin cúm theo mùa sống giảm độc lực qua đường mũi chứa lượng Ovalbumin rất thấp và có thể thích hợp để sử dụng cho những bệnh nhân dị ứng với trứng không bị hen suyễn [4, 6].

Trong nghiên cứu này chúng tôi đã thiết lập được quy trình và tiến hành thẩm định quy trình với các thông số kỹ thuật bao gồm độ đúng, độ chính xác (độ lặp lại và chính xác trung gian) và tính tuyến tính. Nghiên cứu này được tiến hành theo một quy trình khác và thẩm định trên mẫu vắc xin thử nghiệm được sản xuất tại Việt Nam. Kết quả thu được cho thấy hàm lượng của vắc xin cúm Influc-S khoảng 600 ng/ml tương ứng khoảng 0,3µg/0,5 ml đạt tiêu chuẩn về thử nghiệm Ovalbumin và quy trình được tiến hành thẩm định các thông số kỹ thuật để đảm bảo sự phù hợp và khoa học khi đưa vào áp dụng.

Bên cạnh đó, với phương pháp ELISA này, kết quả thu được của nghiên cứu khi tính toán thống kê đều cho thấy, các thông số kỹ thuật của quy trình với độ đúng ( $t$ - bảng (- 2,29 - 2,39)  $< t_{\alpha} = 2,571$ ), tính chính xác (%CV= 0,79-1,21%), tính tuyến tính ( $R^2 = 0,995$ , %CV = 0,28 - 4,47%,  $\Delta i$  - 2,47 – 10,95%) và giới hạn được phát hiện của quy trình là 0,625 ng/ml. Với những kết

quả thu được trong nghiên cứu cho thấy có sự tương đồng với những báo cáo khoa học được đưa ra, đạt các chỉ số về chất lượng đảm bảo quy trình đưa ra hoàn toàn phù hợp và tin cậy [4,7-9].

Kết luận: Kết quả nghiên cứu cho thấy các tiêu chí về độ đúng, tính chính xác và tính tuyến tính của phương pháp đều đạt yêu cầu và quy trình đạt tiêu chuẩn để sử dụng là phương pháp thường quy trong công tác kiểm nghiệm tại NICVB.

#### Tài liệu tham khảo

- [1] Rank MA, Li JT, 2009. Clinical pearls for preventing, diagnosing, and treating seasonal and 2009 H1N1 influenza infection in patients with asthma. *J Allerg Clin Immunol*. 124:1123–6.
- [2] Chaloupka I, Schuler A, Marschall M. Meier-Ewert H, 1996. Comparative analysis of six European influenza vaccines. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis*. 15:121–7.
- [3] Zeiger RS, 2002. Current issues with influenza vaccination in egg allergy. *J Allerg Clin Immunol*. 110:834–40.
- [4] Waibel KH, Gomez R. Ovalbumin content in 2009 to 2010 seasonal and H1N1 monovalent influenza vaccines, 2010. *J All Clin Immunol*. 2010 in press.
- [5] James JM, Zeiger RS, Lester MR, Fasano MB, Gern JE, Mansfield LE, et al, 1998. Safe administration of influenza vaccine to patients with egg allergy. *J Pediatr*. 133:624–8.
- [6] Kirk H Waibel, Robert Gomez, 2010. Ovalbumin content in 2009 to 2010 seasonal and H1N1 monovalent influenza vaccines. *J Allergy Clin Immunol*, 125(3):749-51
- [7] Guideline on Influenza vaccines – Quality - Module 20 July 2017  
EMA/CHMP/BWP/310834/2012 Rev.1  
Committee for Medicinal Products for Human use (CHMP)
- [8] <https://www.cdc.gov/flu/prevent/egg>
- [9] WHO TRS No 977, 2013. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of influenza vaccines (human, live attenuated) for intranasal administration.

