

NMCT [2]. Nghiên cứu này gồm có 610 bệnh nhân nam NMCT và 733 người trong nhóm chứng từ nghiên cứu ECTIM (Etude Cas-Témoin de l'Infarctus du Myocarde), một nghiên cứu đa trung tâm xác định các biến thể gen tiềm năng thúc đẩy NMCT ở những dân số châu Âu khác nhau (Belfast, Lille, Strasbourg và Toulouse), tần suất kiểu gen ACE DD trong toàn bộ dân số nghiên cứu là 32,3% và alen D chiếm tỉ lệ 43,0% [2].

Các nghiên cứu khác ở dân số châu Á cũng nhận thấy kiểu gen DD có tỉ lệ thấp nhất như nghiên cứu của Yoshida M. ở Nhật Bản [7], Zhang Y. ở Trung Quốc [8] và Baruah S. ở Ấn Độ [1]. Tỉ lệ alen D trong nghiên cứu của các tác giả này lần lượt là 37,0%; 45,7% và 25,5% [1], [7], [8].

## V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 130 bệnh nhân nhồi máu cơ tim cấp, chúng tôi ghi nhận tỉ lệ kiểu gen II, ID và DD của điểm đa hình ACE I/D lần lượt là 42,3%; 41,5% và 16,2% và tỉ lệ alen I và D là 59,2% và 40,8%.

**LỜI CẢM ƠN:** Trần Công Duy được tài trợ bởi Tập đoàn Vingroup – Công ty CP và hỗ trợ bởi Chương trình học bổng thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đối mới sáng tạo Vingroup (VINIF), Viện Nghiên cứu Dữ liệu lớn, mã số VINIF.2021.TS.126.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Baruah S, Chaliha MS, Borah PS, et al (2016),

"Insertion/Deletion genotype of angiotensin I-converting-enzyme gene predicts risk of myocardial infarction in North East India", *Biochem Genet*, 54 (2), pp. 134-46.

2. Cambien F, Poirier O, Lecerf L, et al (1992), "Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction", *Nature*, 359, pp. 641-644.

3. Mehri S, Baudin B, Mahjoub S, et al (2010), "Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism in a Tunisian healthy and acute myocardial infarction population", *Genetic testing and molecular biomarkers*, 14 (1), pp. 85-91.

4. Ngô Tuấn Hiệp (2017), So sánh giá trị của các thang điểm nguy cơ trong tiền lượng bệnh nhân nhồi máu cơ tim cấp, Luận án Tiến sĩ Y học, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.

5. Nguyễn Văn Tuấn, Phạm Hồng Phương (2021), "Một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả chụp động mạch vành qua da ở bệnh nhân nhồi máu cơ tim cấp", *Tạp chí Y Học Việt Nam*, 502 (1), tr. 180-184.

6. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al (2018), "Fourth universal definition of myocardial infarction", *Circulation*, 138, e618-e651.

7. Yoshida M, Iwai N, Ohmichi N, et al (1999), "D allele of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for secondary cardiac events after myocardial infarction", *Int J Cardiol*, 70, pp. 119-125.

8. Zhang Y, Zhou S, Zhao X, Lei J (2006), "Relationship between polymorphism of angiotensin I converting enzyme gene insertion/deletion and ACE, PAI-1 activity in patients with myocardial infarction", *Chin J Pathophysiol*, 22, pp. 2336-2339.

# MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA HAI PHƯƠNG PHÁP TẠO ĐÁM HOẠI TỬ (PFU) VÀ LIỀU GÂY NHIỄM 50% NUÔI CẤY TẾ BÀO (CCID<sub>50</sub>) CỦA VẮC XIN SỞI DỰ TUYỂN MẪU CHUẨN QUỐC GIA VIỆT NAM

Phạm Văn Hùng\*, Đoàn Hữu Thiên\*, Nguyễn Thị Kiều\*

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Xác định hệ số tương quan công hiệu giữa hai phương pháp tạo đám hoại tử (PFU) và liều gây nhiễm 50% nuôi cấy tế bào (CCID<sub>50</sub>) của vắc xin sợi dự tuyển mẫu chuẩn quốc gia Việt Nam. **Đối tượng:** Loạt vắc xin Sởi sống giảm độc lực dự tuyển MCQG RM-01-07 được sản xuất tại POLYVAC. **Phương pháp nghiên cứu:** thực nghiệm - phân tích so sánh kết quả. **Kết quả:** Qua nghiên cứu về vắc xin sợi mẫu

chuẩn dự tuyển MCQG, ta thấy: Công hiệu của vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển MCQG loạt RM 01-07 theo phương pháp PFU là: 4,41 log<sub>10</sub> PFU/ 0,5ml. Công hiệu của vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển MCQG loạt RM 01-07 theo phương pháp CCID<sub>50</sub> là: 3,48 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/ 0,5ml. Phương pháp PFU và CCID<sub>50</sub> có mối tương quan chặt chẽ và hệ số giữa hai phương pháp khi thực hiện trên chủng AIK-C là PFU/CCID = 1,28; PFU:CCID = 1: 0,78.

**Từ khóa:** vắc xin sợi, PFU, CCID<sub>50</sub>, mẫu chuẩn quốc gia, vắc xin dự tuyển, mẫu chuẩn.

\* Viện Kiểm định quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế, Bộ Y tế

Chịu trách nhiệm chính: Phạm Văn Hùng

Email: hungnicvb@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.2.2022

Ngày phản biện khoa học: 29.3.2022

Ngày duyệt bài: 15.4.2022

## SUMMARY

**THE CORRELATION BETWEEN THE TWO METHODS OF PLAQUES FORMING UNITS (PFU) AND CELL CULTURE INFECTIOUS DOSE 50% (CCID<sub>50</sub>) OF THE MEASLES VACCINE CANDIDATE FOR THE VIETNAMESE**

**NATIONAL REFERENCE STANDARD**

**Objectives:** Determine the effectiveness correlation coefficient between the two methods of Plaques Forming Units (PFU) and Cell Culture Infectious Dose 50% (CCID<sub>50</sub>) of the Measles vaccine candidate for the Vietnamese national reference standard. **Materials:** The live attenuated measles vaccine candidate for the Vietnamese national reference standard RM-01-07 is manufactured at POLYVAC. **Methods:** Empirical research and comparative analysis the results. **Results:** The efficacy of the Measles vaccine candidate for the Vietnamese national reference standard series RM 01-07 by PFU method is: 4.41 log<sub>10</sub> PFU/ 0.5ml. : The efficacy of the Measles vaccine candidate for the Vietnamese national reference standard series RM 01-07 according to the CCID<sub>50</sub> method is: 3.48 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/ 0.5ml. PFU and CCID<sub>50</sub> methods have a close correlation and the coefficient between the two methods when performed on AIK-C strain is PFU/CCID = 1.28; PFU:CCID = 1: 0.78.

**Key words:** Cell Culture Infectious Dose 50%, Plaques Forming Units, reference standard, measles vaccine, candidate vaccine, National Reference Standard.

**I. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Bệnh sởi là bệnh truyền nhiễm cấp tính do vi rút sởi gây ra, bệnh có thể gây dịch lưu hành rộng rãi ở mọi nơi trên thế giới, có tỉ lệ mắc bệnh cao trẻ nhỏ dưới 5 tuổi. Ước tính hàng năm khoảng 100 triệu trường hợp mắc và 6 triệu người tử vong do bệnh sởi [1]. Hiện nay phương pháp phòng bệnh chủ động và hiệu quả nhất vẫn là tiêm phòng vắc xin. Một trong các tiêu chuẩn chất lượng xuất xưởng quan trọng nhất của vắc xin là kiểm tra hiệu lực bảo vệ của vắc xin (công hiệu) phải đạt tiêu chuẩn theo qui định đăng ký của nhà sản xuất hoặc của cơ quan kiểm định quốc gia (KĐQG) hoặc theo tiêu chuẩn theo Dược điển Việt Nam (ĐDVN) hoặc TCYTTC qui định. TCYTTC khuyến cáo có hai phương pháp tiêu chuẩn thử nghiệm xác định công hiệu vắc xin sởi có giá trị như nhau là phương pháp xác định đám hoại tử (PFU) và phương pháp xác định liều gây nhiễm 50% nuôi cấy tế bào

**II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU****2.1 Kết quả công hiệu vắc xin sởi dự tuyển MCQG bằng phương pháp PFU và CCID<sub>50</sub>**

**Bảng 1: Kết quả công hiệu vắc xin sởi dự tuyển MCQG M01-07 bằng phương pháp PFU và CCID<sub>50</sub>**

STT	-70°C		4°C		37°C	
	PFU	CCID <sub>50</sub>	PFU	CCID <sub>50</sub>	PFU	CCID <sub>50</sub>
1	4,42	3,44	4,39	3,39	3,62	2,79
2	4,35	3,54	4,33	3,29	3,64	2,74
3	4,41	3,49	4,31	3,34	3,59	2,89
4	4,41	3,64	4,28	3,39	3,59	2,74
5	4,42	3,54	4,36	3,24	3,63	2,69
6	4,37	3,54	4,35	3,19	3,60	2,69

(CCID<sub>50</sub>). Để xác định rõ hơn mối liên quan giữa hai phương pháp trên của vắc xin dự tuyển MCQG, chúng tôi thực hiện đề tài với mục tiêu sau:

*Xác định hệ số tương quan công hiệu giữa hai phương pháp tạo đám hoại tử (PFU) và liều gây nhiễm 50% nuôi cấy tế bào (CCID<sub>50</sub>) của vắc xin sởi dự tuyển mẫu chuẩn quốc gia Việt Nam.*

**II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

**2.1 Đối tượng nghiên cứu:** Loạt vắc xin Sởi sống giảm độc lực dự tuyển MCQG RM-01-07 được sản xuất tại POLYVAC.

**Thời gian và địa điểm:**

- Thời gian: từ tháng 6/2014 – tháng 8/2017
- Địa điểm: NICVB, Polyvac và Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

**Vật liệu nghiên cứu:**

- Vắc xin sởi mẫu chuẩn quốc tế mã số: 92-648, NIBSC – Anh cung cấp, số lượng: 9 lọ;
- Vắc xin sởi dự tuyển MCQG mã số RM-01-07, sản xuất tại POLYVAC, số lượng: 100 lọ;
- Trình tự chủng chuẩn AIK-C 266286 của Kitasato, Nhật Bản trên ngân hàng GenBank (NCBI);
- Trình tự 09 loại vắc xin sởi bao gồm các chủng sau: Zagreb AF 266290; Edmonston-Enders FJ211583; Schwarz AF266291; Moraten AF266287; Rubeovax AF266289; Leningrad-4 AY730614; Shanghai-191FJ416067; CAM-70DQ345723; Changchun-41FJ416068 trên ngân hàng GenBank (NCBI);
- Trình tự chủng hoang dại Edmonston-wt mã số AF266288 trên ngân hàng GenBank (NCBI)
- Và các sinh phẩm, hóa chất, thiết bị dụng cụ khác cần thiết phục vụ cho nghiên cứu.

**2.2 Phương pháp nghiên cứu:**

- Phương pháp nghiên cứu thực nghiệm được sử dụng để xác định công hiệu của vắc xin sởi dự tuyển MCQG.
- Xác định hệ số tương quan (k) giữa hai phương pháp PFU và CCID<sub>50</sub> bằng phương pháp phân tích so sánh kết quả.

7	4,38	3,34	4,39	3,49	3,53	2,79
8	4,40	3,39	4,40	3,39	3,64	2,89
9	4,34	3,49	4,26	3,29	3,53	2,74
10	4,44	3,44	4,27	3,54	3,65	2,89
11	4,46	3,49	4,28	3,49	3,65	2,74
12	4,40	3,54	4,29	3,39	3,62	2,74
13	4,50	3,29	4,34	3,44	3,66	2,84
14	4,46	3,34	4,28	3,49	3,64	2,79
15	4,49	3,29	4,32	3,39	3,67	2,79
16	4,39	3,64	4,25	3,44	3,65	2,74
17	4,44	3,69	4,38	3,34	3,61	2,84
18	4,42	3,59	4,39	3,34	3,67	2,79
GM	4,41	3,48	4,32	3,38	3,62	2,78
SD	0,04	0,11	0,05	0,09	0,04	0,06
GM+2SD	4,50	3,72	4,42	3,56	3,70	2,91
GM-2SD	4,32	3,24	4,22	3,19	3,53	2,65
CV	0,98	3,44	1,17	2,74	1,14	2,29
CI	4,32-4,50	3,24-3,72	4,22-4,42	3,19-3,56	3,53-3,70	2,65-2,91

Kết quả công hiệu của mẫu vắc xin dự tuyển theo phương pháp PFU bảo quản -70°C là: 4,41 log<sub>10</sub> PFU/ 0,5ml với khoảng tin cậy 95% CI (4,32-4,50), CV: 0,98%; mẫu bảo quản 4°C: 4,32 log<sub>10</sub> PFU/0,5ml với khoảng tin cậy CI (4,22 – 4,42), CV: 1,17%; mẫu bảo quản 37°C: 3,62 log<sub>10</sub> PFU/ 0,5ml với khoảng tin cậy CI (3,53 – 3,70), CV: 1,14%. Đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn của TCYTGG và Dược điển Việt Nam IV cho vắc xin sởi.

Kết quả công hiệu của mẫu vắc xin sởi dự tuyển MCQG theo phương pháp CCID<sub>50</sub> bảo quản -70°C là: 3,48 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/ 0,5ml với khoảng tin cậy 95% CI (3,24 – 3,72), CV: 3,44%; mẫu bảo quản 4°C: 3,38 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/ 0,5ml với khoảng tin cậy CI (3,19 – 3,56), CV: 2,74%; mẫu bảo quản 37°C: 2,78 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/ 0,5ml với khoảng tin cậy CI (2,65 – 2,91), CV: 2,29%. Đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn của TCYTGG và Dược điển Việt Nam IV cho vắc xin sởi.

## 2.2. Xác định hệ số tương quan (k) giữa 2 phương pháp PFU và CCID<sub>50</sub>

**Bảng 2: Kết quả công hiệu vắc xin sởi dự tuyển MCQG M01-07 ở cả 2 phương pháp PFU & CCID<sub>50</sub> ở điều kiện bảo quản -70°C, 4°, 37°C**

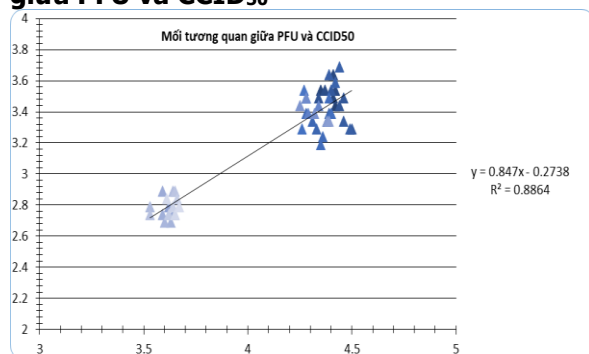
STT	Nhiệt độ bảo quản	Kết quả	
		PFU	CCID <sub>50</sub>
1	-70°C	4,42	3,44
2		4,35	3,54
3		4,41	3,49
4		4,41	3,64
5		4,42	3,54
6		4,37	3,54
7		4,38	3,34
8		4,40	3,39
9		4,34	3,49

10	4°C	4,44	3,44
11		4,46	3,49
12		4,40	3,54
13		4,50	3,29
14		4,46	3,34
15		4,49	3,29
16		4,39	3,64
17		4,44	3,69
18		4,42	3,59
19		4,39	3,39
20		4,33	3,29
21		4,31	3,34
22		4,28	3,39
23		4,36	3,24
24		4,35	3,19
25		4,39	3,49
26		4,40	3,39
27		4,26	3,29
28	4,27	3,54	
29	4,28	3,49	
30	4,29	3,39	
31	4,34	3,44	
32	4,28	3,49	
33	4,32	3,39	
34	4,25	3,44	
35	4,38	3,34	
36	4,39	3,34	
37	37°C	3,62	2,79
38		3,64	2,74
39		3,59	2,89
40		3,59	2,74
41		3,63	2,69
42		3,60	2,69
43		3,53	2,79
44		3,64	2,89
45		3,53	2,74
46		3,65	2,89

47		3,65	2,74
48		3,62	2,74
49		3,66	2,84
50		3,64	2,79
51		3,67	2,79
52		3,65	2,74
53		3,61	2,84
54		3,67	2,79
<b>GM</b>		<b>4,12</b>	<b>3,21</b>
<b>r</b>		<b>0.94</b>	

Kết quả công hiệu trung bình lô vắc xin sởi dự tuyển MCQG M01-07 bằng phương pháp PFU (4,12 log<sub>10</sub> PFU) và phương pháp CCID<sub>50</sub> (3,12 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>) khi bảo quản ở các điều kiện khác nhau -70°C, 4°C và 37°C, đạt yêu cầu về công hiệu theo tiêu chuẩn của TCYTTCG.

**Hình 1: Đồ thị tương quan tuyến tính giữa PFU và CCID<sub>50</sub>**



Kết quả giữa 2 phương pháp PFU và CCID<sub>50</sub> có tính tương quan mật thiết về bản chất và nguyên lý phương pháp với hệ số tương quan  $r = 0,94$  ( $r > 0$ ) và phương trình tuyến tính  $y = 0,847x - 0,273$ .

**Bảng 3: Kết quả xác định hệ số tương quan (k) quy đổi giữa 2 phương pháp PFU và CCID<sub>50</sub>**

STT	Kết quả PFU/CCID <sub>50</sub>		
	-70°C	4°C	37°C
1	1,28	1,29	1,29
2	1,22	1,31	1,32
3	1,26	1,29	1,24
4	1,21	1,26	1,31
5	1,24	1,34	1,34
6	1,23	1,36	1,33
7	1,31	1,25	1,26
8	1,29	1,29	1,25
9	1,24	1,29	1,28
10	1,29	1,20	1,26
11	1,27	1,22	1,33
12	1,24	1,26	1,32
13	1,36	1,26	1,28
14	1,33	1,22	1,30
15	1,36	1,27	1,31

16	1,20	1,23	1,33
17	1,20	1,31	1,27
18	1,23	1,31	1,31
<b>GM</b>	<b>1,26</b>	<b>1,27</b>	<b>1,29</b>
<b>Hệ số tương quan PFU/CCID<sub>50</sub> (k): 1,28</b>			
<b>P (Anova)</b>	<b>0,323 (&gt; 0,05)</b>		

Kết quả nghiên cứu hệ số trung bình ở các điều kiện khác nhau giữa PFU/CCID<sub>50</sub> = 1,28. Kết quả so sánh các nhóm mẫu khác nhau bằng kiểm định Anova cho thấy kết quả giữa các nhóm không có sự khác biệt với  $p = 0,323$  ( $> 0,05$ ), không có ý nghĩa thống kê.

#### IV. BÀN LUẬN

**Sự cần thiết của việc thiết lập đơn vị cho vắc xin sởi MCQG.** Để đảm bảo chất lượng của vắc xin thì việc kiểm tra chất lượng được coi là nền tảng. Chất lượng của sinh phẩm được kiểm tra bằng các phương pháp lý, hóa học và sinh học. Quy trình kiểm tra sử dụng phương pháp sinh học được gọi là thử nghiệm sinh học. Trong một thử nghiệm sinh học người ta thường sử dụng các động vật thí nghiệm, mô, tế bào nuôi cấy, các chủng vi sinh vật. Giá trị của các thử nghiệm này thường có độ chênh lệch lớn hơn so với thử nghiệm lý hóa. Nguyên nhân gây ra sự chênh lệch này là do sự khác biệt sinh học của các loài tham gia thử nghiệm, sự khác nhau giữa các phòng thí nghiệm, người thực hiện kỹ thuật, trang thiết bị...

WHO đã thiết lập mẫu chuẩn quốc tế (MCQT) vì các sai lệch do độ cảm nhiễm và đáp ứng của nhóm động vật thí nghiệm được sử dụng và điều kiện thí nghiệm sẽ ảnh hưởng giống nhau và đồng thời đến cả mẫu chuẩn và mẫu thử nếu cả hai được thử nghiệm trong cùng một điều kiện thí nghiệm. Bằng phương pháp này có thể giảm tối thiểu độ chênh lệch về kết quả kiểm tra chất lượng của vắc xin và sinh phẩm.

Mẫu chuẩn quốc tế đã được chuẩn định trên các labo đạt tiêu chuẩn thế giới đặt tại một số quốc gia đại diện cho từng khu vực, từng châu lục để đảm bảo tính đồng nhất khắp thế giới về hiệu lực và hoạt tính. Chúng được cung cấp dưới dạng đồng khô trong ống hoặc dạng dung dịch có ghi số đơn vị hoạt tính hoặc công hiệu biểu thị dưới dạng đơn vị quốc tế (IU). Do đó giá thành của mỗi ống chuẩn quốc tế sẽ rất cao và số lượng hạn chế nên không đủ số lượng phục vụ thường xuyên cho công tác kiểm định chất lượng vắc xin sản xuất trong nước. Vì vậy, các nước trên thế giới có sản xuất vắc xin sởi đều phải triển khai sản xuất mẫu chuẩn quốc gia và được chuẩn định với mẫu chuẩn quốc tế.

Hiện nay mẫu chuẩn quốc tế có giá trị hiệu giá công bố là đơn vị CCID<sub>50</sub>, mẫu chuẩn quốc gia được chuẩn định theo chuẩn quốc tế cũng sẽ có đơn vị CCID<sub>50</sub>, tuy nhiên chỉ với đơn vị CCID<sub>50</sub> thì mẫu chuẩn quốc gia sẽ không thực hiện làm thang đánh giá cho các sản phẩm vắc xin đăng ký bằng đơn vị PFU. Trên thế giới có rất nhiều sản phẩm vắc xin sởi thương mại sử dụng đơn vị CCID<sub>50</sub> hoặc PFU, do vậy các quốc gia sản xuất mẫu chuẩn cần phải chuẩn định đơn vị phù hợp theo điều kiện thực tế của quốc gia mình. Trong được điển Châu Âu và hồ sơ đăng ký của một số nhà sản xuất Bỉ, Pháp, Ấn Độ, Mỹ... sử dụng đơn vị CCID<sub>50</sub> cho hiệu giá của vắc xin sởi, trong khi đó tại Nhật Bản và một số nhà máy nhận chuyển giao kỹ thuật từ Nhật Bản lại sử dụng đơn vị PFU. Trong hướng dẫn kiểm soát chất lượng vắc xin sởi của TCYTTG thì cả hai đơn vị PFU và CCID<sub>50</sub> đều có thể được lựa chọn để sử dụng [2], do vậy việc xác định giá trị hiệu giá của vắc xin sởi dự tuyển mẫu chuẩn quốc gia bằng 2 đơn vị PFU và CCID<sub>50</sub> là việc cần thiết. Tuy nhiên chuẩn định bằng cả 2 phương pháp sẽ tốn kém và mất nhiều thời gian, ngoài ra không có mẫu chuẩn nổi chuẩn cho phương pháp PFU. Giữa 2 phương pháp PFU và CCID<sub>50</sub> có mối tương quan với nhau và có thể xác định hệ số quy đổi [3]. Việc tìm hệ số quy đổi và mối tương quan sẽ giúp cho việc xác định đơn vị PFU của mẫu chuẩn quốc gia sau khi thiết lập.

**Xác định công hiệu mẫu chuẩn dự tuyển bằng phương pháp PFU ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau -70°C, 4°C/7 ngày, 37°C/7 ngày.** Xác định công hiệu vắc xin bằng phương pháp PFU chính là xác định số đám hoại tử (plaque) của vi rút sau khi gây nhiễm trên tế bào Vero. Số plaque được xác định bằng cách đếm trực tiếp trên phiến tế bào nuôi cấy, thông thường là phiến 24 giếng hoặc phiến 6 giếng. Sự khác biệt giữa các chủng vi rút cũng sẽ cho các đặc điểm hình thái plaque khác nhau, ví dụ plaque của vi rút thủy đậu có hình dấu phẩy, trong khi plaque của vi rút sởi thì có hình tròn. Giữa các chủng sản xuất vắc xin sởi cũng có sự khác biệt về kích thước của các plaque khi cùng nuôi cấy trên tế bào Vero. Chủng Schwarz và Moraten có plaque nhỏ trong khi các chủng Edmonston Zagreb (EZ), CAM, Leningrad -16 thì có plaque lớn hơn.

Thử nghiệm xác định công hiệu vắc xin sởi theo phương pháp PFU đã được thẩm định và sử dụng ở KĐQG. Trong nghiên cứu này chúng tôi thay đổi các điều kiện nhiệt độ bảo quản vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển MCQG từ điều kiện tối ưu -

70°C đến điều kiện bảo quản 4°C là nhiệt độ bảo quản thông thường của vắc xin trong tiêm chủng và điều kiện 37°C là điều kiện thử thách tính ổn định nhiệt của vắc xin.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy công hiệu của vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển MCQG loạt RM 01-07 có các giá trị nằm trong khoảng tin cậy 95%, CV nhỏ hơn tiêu chuẩn (CV ≤ 12%). Có giá trị tương đồng giữa điều kiện bảo quản -70°C với 4°C, còn mẫu bảo quản 37°C thì có công hiệu thấp hơn hai mẫu trên. Chênh lệch giữa mẫu bảo quản 37°C với mẫu 4°C là 0,7 log<sub>10</sub> PFU/ liều (0,5ml), giữa mẫu 37°C với mẫu -70°C là 0,79 log<sub>10</sub> PFU/ liều (0,5ml).

Công hiệu của vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển MCQG loạt RM 01-07 theo phương pháp PFU là: 4,41 log<sub>10</sub> PFU/ 0,5ml.

**Xác định công hiệu mẫu chuẩn dự tuyển bằng phương pháp CCID<sub>50</sub> ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau -70°C, 4°C/7 ngày, 37°C/7 ngày.** Phương pháp CCID<sub>50</sub> đã được thẩm định và áp dụng cho kiểm định công hiệu hầu hết các vắc xin sởi nhập khẩu bao gồm vắc xin phối hợp sởi với Rubella (MR) hoặc Sởi, quai bị, Rubella (MMR) tại KĐQG. Công hiệu CCID<sub>50</sub> được xác định qua sự hủy hoại của vi rút trên tế bào gây nhiễm. Đối với mỗi loại vi rút sẽ có sự hủy hoại đặc trưng, việc xác định sự hủy hoại được thực hiện bằng cách quan sát trên kính hiển vi.

Xác định công hiệu vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển MCQG bằng phương pháp CCID<sub>50</sub> được thực hiện song song cùng với MCQT. Giữa các lần thực hiện giá trị MCQT luôn luôn được xác định và nằm trong giới hạn tiêu chuẩn cho phép (10<sup>4,3</sup>log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub> ± 0,5), điều này khẳng định các lần thực hiện nghiên cứu có giá trị và kết quả nghiên cứu có độ tin cậy cao.

Các kết quả thể hiện trên bảng 3 cho thấy công hiệu của vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển MCQG loạt RM 01-07 có các giá trị nằm trong khoảng tin cậy 95%, CV nhỏ hơn tiêu chuẩn (CV ≤ 12%). Có giá trị tương đồng giữa điều kiện bảo quản -70°C với 4°C, còn mẫu bảo quản 37°C thì có công hiệu thấp hơn hai mẫu trên. Chênh lệch giữa mẫu bảo quản 37°C với mẫu 4°C là 0,6 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/ liều (0,5ml), giữa mẫu 37°C với mẫu -70°C là 0,7 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/ liều (0,5ml).

Công hiệu của vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển MCQG loạt RM 01-07 theo phương pháp CCID<sub>50</sub> là: 3,48 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/ 0,5ml.

**Mối tương quan giữa hai phương pháp.** Hai phương pháp xác định công hiệu vắc xin sởi CCID<sub>50</sub> và PFU đã được TCYTTG mô tả trong

WHO Requirement, tuy nhiên trong đó không chỉ rõ phương pháp nào thực hiện thuận tiện hơn. Các quốc gia có thể lựa chọn một trong hai phương pháp thực hiện phù hợp với điều kiện của mình.

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy giá trị công hiệu của vắc xin sởi mẫu chuẩn dự tuyển MCQG có sự khác biệt giữa hai phương pháp khi thực hiện so sánh trên cùng một mẫu thử nghiệm bảo quản -70°C với kiểm định T-test có giá trị  $p = 1,798E < 0,05$ ,  $t_a = 15,887 > t$ . Nghiên cứu của Nhật bản năm 1997 khi so sánh hai phương pháp trên vắc xin sởi cũng cho rằng giữa hai phương pháp PFU và CCID<sub>50</sub> có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê [4]. Kết quả nghiên cứu trên chỉ ra nồng độ vi rút ở cả hai phương pháp có sự giảm dần khi các mẫu để trong điều kiện nhiệt độ bảo quản cao hơn. Trong nghiên cứu này chúng tôi nhận thấy giữa hai phương pháp có mối tương quan chặt chẽ với  $r = 0,94$ . Các kết quả nghiên cứu về mối tương quan giữa hai phương pháp cũng cho kết quả tương đồng với các công bố nghiên cứu theo tài liệu hướng dẫn của TCYTTG. Theo kết quả trên, chúng tôi đã xác định được hệ số trung bình PFU/CCID<sub>50</sub> = 1,28, tương đương với tỉ lệ PFU: CCID<sub>50</sub> = 1: 0,78; độ biến thiên CV: 1,07%. Kết quả so sánh các nhóm mẫu khác nhau bằng kiểm định Anova cho thấy kết quả giữa các nhóm không có sự khác biệt với  $p > 0,05$ .

Mối quan hệ giữa hai phương pháp tương đương với giá trị lý thuyết (1: 0,69) khi phương pháp CCID<sub>50</sub> được thực hiện khi cho vi rút hấp phụ với hỗn dịch tế bào còn phương pháp PFU thì được thực hiện trên tế bào đã kín đều 1 lớp [5], Kenny và Schell đã báo cáo rằng phương pháp PFU nhạy cảm hơn gấp 10 lần khi thực hiện nghiên cứu trong điều kiện tương tự đối với chủng Schawrz [6]. Trong nghiên cứu của chúng tôi cũng thu được kết quả gần với giá trị lý thuyết khi thực hiện phương pháp CCID<sub>50</sub> bằng cách gây nhiễm vi rút lên hỗn dịch tế bào trên phiến 96 giếng và thực hiện gây nhiễm lên tế bào đã kín lớp khi tiến hành phương pháp PFU trên phiến 6 giếng.

Trong các nghiên cứu trước đây của Nhật Bản khi thực hiện so sánh trên vắc xin từ chủng CAM-Biken chỉ ra rằng nồng độ vi rút giữa hai phương pháp CCID<sub>50</sub> và phương pháp PFU có tỉ lệ PFU/10 [4]. Mann đã tìm thấy rằng 1 CCID<sub>50</sub> tương đương với 0,60 PFU khi thử nghiệm chủng Moraten trên tế bào Vero [7].

Có rất nhiều yếu tố ảnh hưởng đến mối quan hệ giữa hai phương pháp xác định công hiệu vắc xin, bao gồm: phương pháp hấp phụ vi rút, loại tế bào và nồng độ tế bào sử dụng trong thử nghiệm, ảnh hưởng của phương pháp cố định và nhuộm màu trong phương pháp PFU, thiết kế thử nghiệm, ảnh hưởng của phiên nuôi cấy, môi trường nuôi cấy, nhiệt độ và độ ẩm.

Như vậy trong nghiên cứu này chúng tôi khẳng định hai phương pháp PFU và CCID<sub>50</sub> có mối tương quan chặt chẽ và hệ số giữa hai phương pháp khi thực hiện trên chủng AIK-C là PFU/CCID = 1,28; PFU:CCID = 1: 0,78.

## V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu về vắc xin sởi mẫu chuẩn dự tuyển MCQG chúng tôi có các kết luận như sau:

Mối tương quan giữa 2 phương pháp PFU và CCID<sub>50</sub> chặt chẽ

- Công hiệu của vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển MCQG loạt RM 01-07 theo phương pháp PFU là: 4,41 log<sub>10</sub> PFU/ 0,5ml.

- Công hiệu của vắc xin mẫu chuẩn dự tuyển MCQG loạt RM 01-07 theo phương pháp CCID<sub>50</sub> là: 3,48 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/ 0,5ml.

- Phương pháp PFU và CCID<sub>50</sub> có mối tương quan chặt chẽ và hệ số giữa hai phương pháp khi thực hiện trên chủng AIK-C là PFU/CCID = 1,28; PFU:CCID = 1: 0,78

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bernard D Davis, Renato Dulbecco, Herman N Eisen, et al**, Microbiology, fourth ed. Philadelphia : Lippincott, 1990.
2. **Dự án tiêm chủng mở rộng Quốc gia**, Tổng kết công tác tiêm chủng mở rộng năm 2004, Hà Nội, Hà Nội, 2005.
3. **Huỳnh Phương Liên, Nguyễn Anh Tuấn và cs**, "Nghiên cứu sản xuất vắc xin viêm não mẫu chuẩn VNR203 dùng trong kiểm định chất lượng vắc xin VNNB" Đề tài nhánh cấp nhà nước KC10-10, nghiệm thu 1/2005.
4. **T. Nakayama, K. Komase, R. Uzuka, A. Hoshi, and T. Okafuji**, "Leucine at position 278 of the AIK-C measles virus vaccine strain fusion protein is responsible for reduced syncytium formation," J Gen Virol, vol.82, no.9, pp.2143-2150, Sep 2001.
5. **Dự án tiêm chủng mở rộng**, "Báo cáo tổng kết tiêm chủng mở rộng 2013", 2014.
6. **Nguyễn Thị Kê và cs**, "Nghiên cứu tiếp thu công nghệ xây dựng quy trình sản xuất vắc xin thương hàn", Đề tài cấp nhà nước KC11-11B, nghiệm thu 5/2001.
7. **Vũ Quốc Ái, Nguyễn Thị Minh Phượng, Nguyễn Ngọc Ân**, "Kết quả khảo sát vụ dịch sởi đầu năm 2000 tại tỉnh Đồng Tháp," Tạp chí Y học dự phòng, tập XI, số 1(47), 65-67, 2001.