

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Eddy, J.J., et al., Pancreatitis in pregnancy. Obstet Gynecol, 2008. **112**(5): p. 1075-81.
2. Pitchumoni, C.S. and B. Yegneswaran, Acute pancreatitis in pregnancy. World J Gastroenterol, 2009. **15**(45): p. 5641-6.
3. Ducarme, G., et al., Management of necrotizing pancreatitis in the third trimester of pregnancy. Arch Gynecol Obstet, 2009. **279**(4): p. 561-3.
4. Tang, S.J., et al., Acute pancreatitis during pregnancy. Clin Gastroenterol Hepatol, 2010. **8**(1): p. 85-90.
5. Swisher, S.G., et al., Management of pancreatitis complicating pregnancy. Am Surg, 1994. **60**(10): p. 759-62.
6. Ewald, N., P.D. Hardt, and H.U. Kloer, Severe hypertriglyceridemia and pancreatitis: presentation and management. Curr Opin Lipidol, 2009. **20**(6): p. 497-504.

## TÍNH ỔN ĐỊNH VÀ CÔNG HIỆU CỦA VẮC XIN SỞI DỰ TUYỂN MẪU CHUẨN QUỐC GIA VIỆT NAM

Phạm Văn Hùng\*, Nguyễn Thị Kiều\*

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Đánh giá tính ổn định và công hiệu của vắc xin sởi 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 kết hợp hồi cứu. **Kết quả:** Qua nghiên cứu về vắc xin sởi mẫu chuẩn dự tuyển MCQG ta thấy: có vi rút sởi trong vắc xin, quan sát trực tiếp tính chất vật lý thấy bánh đông khô, xốp đều, không có dị vật; vắc xin vô trùng; không có sự phát triển của Mycoplasma; công hiệu, ổn định nhiệt, độ ẩm tồn dư đều đạt chuẩn theo tiêu chí đánh giá của TCYTTC. Chúng sản xuất vắc xin sởi POLYVAC – AIK-C thuộc về kiểu gen A, giảm độc lực hoàn toàn, không độc, không thay đổi trong kháng nguyên. Vắc xin sởi MCDT có độ ổn định công hiệu cao trong điều kiện bảo quản -70<sup>o</sup>C.

**Từ khóa:** mẫu chuẩn, vắc xin sởi, dự tuyển, mẫu chuẩn quốc gia.

## SUMMARY

### THE STABILITY AND EFFECTIVENESS OF THE MEASLES VACCINE CANDIDATE FOR THE VIETNAMESE NATIONAL REFERENCE STANDARD

**Objectives:** Assessed the stability and effectiveness 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 Retrospective study. **Results:** Through the study of standard sample measles vaccine candidate for the national standard sample, we found that: there is measles virus in the vaccine, direct

observation of physical properties shows that the cake is freeze-dried, evenly porous, without foreign bodies; sterile vaccines; no growth of Mycoplasma; efficacy, thermal stability, and residual moisture are all up to WHO evaluation criteria. The production strain of measles vaccine POLYVAC - AIK-C belongs to genotype A, completely attenuated, non-toxic, unchanged in antigen. The candidate standard measles vaccine has high efficacy stability under -70<sup>o</sup>C storage conditions.

**Key words:** 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, phương pháp phòng bệnh chủ động và hiệu quả nhất vẫn là tiêm phòng vắc xin [1]. Hiện nay trên thế giới và Việt Nam có rất nhiều loại vắc xin sởi đơn và sởi phối hợp cùng thành phần Quai bị và Rubella (MMR, MR, Priorix, Trivivac...), từ nhiều nhà sản xuất khác nhau với các quy trình sản xuất và kiểm định chất lượng khác nhau được lưu hành. Vắc xin sởi trước khi được sử dụng phòng bệnh cho cộng đồng phải được kiểm định xuất xưởng đạt các tiêu chuẩn do cơ quan kiểm định quốc gia vắc xin và sinh phẩm y tế (NICVB) đánh giá và cấp chứng nhận chất lượng. 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. Chúng tôi thực hiện đề tài với mục tiêu: *Đánh giá tính ổn định công hiệu của vắc xin sởi dự tuyển mẫu chuẩn quốc gia Việt Nam.*

\*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: 11.2.2022

Ngày phản biện khoa học: 28.3.2022

Ngày duyệt bài: 11.4.2022

**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.

**2.2. Thời gian và địa điểm:**

- Thời gian: từ tháng 6/2014 – tháng 8/2017
- Địa điểm: NICVB, Polyvac và Viện VSĐT TW.

**2.3. 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.

**2.4. Phương pháp nghiên cứu:** Thực nghiệm kết hợp hồi cứu kết quả kiểm định chất lượng khi xuất xưởng lô vắc xin dự tuyển và kết quả đánh giá tính ổn định công hiệu các năm từ 2009-2017 tại nhà sản xuất và NICVB. Sử dụng MCQT của TCYTTG do NIBSC thiết lập để làm đối chứng song song với mẫu thử trong đánh giá thử nghiệm công hiệu.

**III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU****3.1 Kết quả kiểm định xuất xưởng lô vắc xin sởi dự tuyển MCQG RM-01-07****Bảng 1: Kết quả kiểm định chất lượng xuất xưởng của vắc xin sởi dự tuyển MCQG**

Thử nghiệm	Phương pháp	Kết quả	Tiêu chuẩn chấp thuận	Kết luận
Nhận dạng	Miễn dịch huỳnh quang	Có vi rút sởi	Có vi rút sởi	Đạt
Tính chất vật lý	Quan sát trực tiếp	Bánh đông khô, xốp đều, không có dị vật	Bánh đông khô, xốp đều, không có dị vật	Đạt
Vô trùng	Màng lọc	Không có sự phát triển vi khuẩn và nấm	Không có sự phát triển vi khuẩn và nấm	Đạt
Mycoplasma	Nuôi cấy trực tiếp	Không có sự phát triển của Mycoplasma	Không có sự phát triển của Mycoplasma	Đạt
Công hiệu	PFU	4,55 log <sub>10</sub> PFU/liều (0,5ml)	≥ 10 <sup>3</sup> PFU/ liều (0,5ml)	Đạt
Ổn định nhiệt	PFU	3.80 log <sub>10</sub> PFU/liều (0,5ml)	Chênh lệch hiệu giá ≤ 1log <sub>10</sub> /liều của mẫu bảo quản 2-8°C.	Đạt
Độ ẩm tồn dư	Karl Fischer	0,6%	< 2%	Đạt

Các kết quả đánh giá bao gồm có thử nghiệm nhận dạng bằng phương pháp miễn dịch huỳnh quang kết quả có mặt của vi rút sởi trong vắc xin; thử nghiệm tính chất vật lý quan sát trực tiếp bánh đông khô, xốp đều, không có dị vật; thử nghiệm vô trùng theo phương pháp nuôi cấy trực tiếp: không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm; thử nghiệm Mycoplasma: không có sự phát triển của Mycoplasma; thử nghiệm công hiệu bằng phương pháp PFU có kết quả 4.55log<sub>10</sub>

PFU/0,5ml; thử nghiệm ổn định nhiệt trong điều kiện bảo quản 37°C: 3.80log<sub>10</sub>PFU/0,5ml; thử nghiệm độ ẩm tồn dư thực hiện theo phương pháp Karl Fischer có kết quả 0,6%. Như vậy kết quả cho thấy lô vắc xin sởi dự tuyển MCQG đạt yêu cầu về kiểm định xuất xưởng, đủ tiêu chuẩn lựa chọn để tiếp tục nghiên cứu và đánh giá chất lượng theo qui định để làm căn cứ khoa học công nhận là MCQG.

**3.2 Nhận dạng đặc hiệu chủng vắc xin sởi POLYVAC\_AIK-C****Bảng 2: So sánh trình tự nucleotide (bên trên) và aa (bên dưới) giữa chủng POLYVAC\_AIK-C và các chủng khác của vùng mã hóa**

POLYVAC_AIK-C	38	32	44	04	44	44	38	27	48	75	41
Esmonston-Wt	23	33	42	42	42	42	36	29	50	73	39
Zagreb	17	18	42	36	42	42	36	25	46	71	39
Edmonston-Enders	26	27	23	48	0	0	16	37	57	68	51
AIK-C_266286	04	27	21	30	48	48	42	31	52	79	45
Schwarz	26	27	23	0	30	0	16	37	57	68	51
Moraten	26	27	23	0	30	0	16	37	57	68	51

EdmonstonB(Rubeovax)	<b>21</b>	22	18	11	25	11	11		31	51	62	43
Leningrad-4	<b>17</b>	20	14	25	21	25	25	20		29	68	22
Shanghai-191	<b>33</b>	36	30	41	37	41	41	36	20		89	35
CAM-70	<b>42</b>	43	39	43	46	43	43	38	41	57		82
Changchun-47	<b>28</b>	31	25	36	32	36	36	31	15	23	51	

Chúng vắc xin sởi dự tuyển MCQG POLYVAC\_AIK-C sau khi được giải trình tự toàn bộ vùng gene mã hóa (N - P - M - F - H - L) có tính kháng nguyên đặc trưng bằng phương pháp NGS. Kết quả trình tự nucleotide được so sánh về tính đồng nhất với chủng vắc xin gốc của đơn vị chuyển giao công nghệ Kitasato Nhật Bản là AIK-C, 09 chủng vắc xin khác và 01 chủng hoang dại.

Chủng POLYVAC\_AIK-C có tính đồng nhất gần như tương đồng với chủng chuẩn (gốc) là chủng AIK-C 266286, chỉ khác biệt 4 điểm khi so sánh cả nucleotide và (aa). Trong khi đó có thay đổi 38 nucleotide và 23 aa chủng Edmonston hoang dại và có sự thay đổi lớn về trình tự nucleotide so sánh với các chủng vắc xin giảm độc lực khác bao gồm: 32 nucleotide đối với chủng Zagreb, 44 nucleotide đối với chủng Edmonston-Enders, 37 nucleotide đối với chủng Rubeovax, 44 nucleotide đối với chủng Schwarz, 44 nucleotide

đối với chủng Moraten, 27 nucleotide đối với chủng Leningrad-4, 48 nucleotide đối với chủng Shanghai-191, 75 nucleotide đối với chủng CAM-70, và 41 nucleotide đối với chủng Changchun-47. Khi so sánh trình tự aa cũng cho kết quả là có sự thay đổi bao gồm: 17 aa đối với chủng Zagreb, 26 aa đối với chủng Edmonston Enders, 21 aa đối với chủng Edmonston B, 26 aa đối với chủng Schwarz, 26 aa đối với chủng Moraten, 17 aa đối với chủng Leningrad-4, 33 aa đối với chủng Shanghai-191, 42 aa đối với chủng CAM-70 và 28 aa đối với chủng Changchun-47.

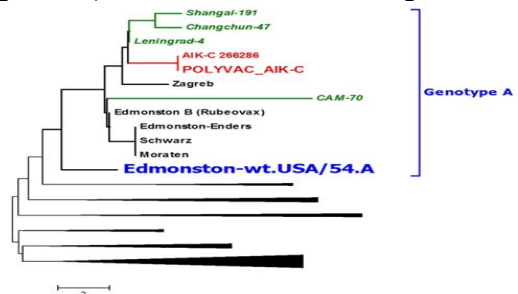
Chủng POLYVAC\_AIK-C có sự khác biệt lớn nhất với chủng CAM-70 với 75 nucleotide và 42 aa. Ngoài ra khi so sánh với chủng giảm độc lực Shanghai-191 và Changchun-47 cũng có khác biệt lớn bao gồm cả nucleotide và aa, bao gồm 48 nucleotide, 33 aa đối với Shanghai-191 và Changchun-47 là 41 nucleotide, 28 aa.

**Bảng 3: Bảng so sánh song song nucleotide (bên trên) và aa (bên dưới) giữa chủng POLYVAC\_AIK-C và các chủng khác của vùng không mã hóa**

POLYVAC_AIK-C		<b>11</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
Esmonston-Wt	<b>7</b>		11	8	12	8	8	9	11	11	8	11
Zagreb	<b>5</b>	9		8	10	8	8	9	11	11	8	11
Edmonston-Enders	<b>4</b>	7	5		10	0	0	3	9	9	2	9
AIK-C 266286	<b>0</b>	7	5	4		10	10	11	11	11	10	11
Schwarz	<b>4</b>	7	5	0	4		0	3	9	9	2	9
Moraten	<b>4</b>	7	5	0	4	0		3	9	9	2	9
EdmonstonB(Rubeovax)	<b>5</b>	8	6	1	5	1	1		10	10	3	8
Leningrad-4	<b>5</b>	8	8	5	5	5	5	6		6	9	6
Shanghai-191	<b>4</b>	7	7	4	4	4	4	5	5		9	6
CAM-70	<b>5</b>	8	6	1	5	1	1	2	6	5		9
Changchun-47	<b>3</b>	6	6	3	3	3	3	4	4	3	4	

Không có sự thay đổi về trình tự aa và có 1 sự thay đổi nucleotide giữa chủng vắc xin POLYVAC\_AIK-C và chủng chuẩn (gốc) là AIK-C 266286. Trong khi đó sự thay đổi về trình tự nucleotide và aa khi so sánh với chủng hoang dại Esmonston hoang dại có thay đổi 11 nucleotide và 7 aa và 9 chủng vắc xin khác có sự thay đổi về trình tự nucleotide là: 9 nucleotide đối với Zagreb, 9 nucleotide đối với Edmonston Enders, 10 nucleotide đối với Rubeovax, 9 nucleotide đối với Schwarz, 9 nucleotide đối với Motaren, 10 nucleotide đối với Leningrad-4, 10 nucleotide đối với Shanghai-191, 9 nucleotide đối với CAM-70, và 10 nucleotide đối với Changchun-47; cũng như kết quả thay đổi trình tự aa là: 5 aa đối với Zagreb, 4 aa đối với Edmonston Enders, 5 aa đối

với Rubeovax, 4 aa đối với Schwarz, 4 aa Moraten, 5 aa đối với Leningrad-4, 4 aa đối với Shanghai-191, 5 aa CAM-70 và 3 aa Changchun-47.



**Hình 1.** Phân tích cây di truyền của toàn bộ gen H giữa chủng vắc xin POLYVAC\_AIK-C với chủng gốc và các chủng vắc xin khác.

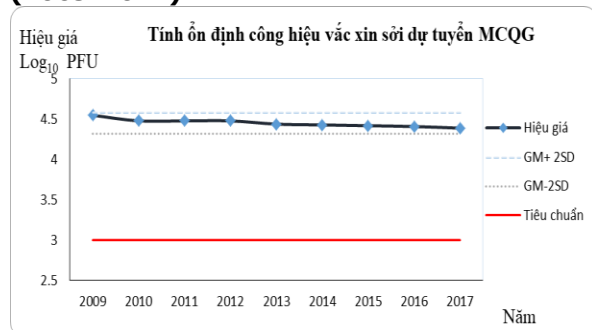
Nét đậm: Các chủng có lịch sử được cấy chuyển từ chủng Edmonston.

Nét đậm nghiêng: Các chủng có lịch sử không bắt nguồn từ chủng Edmonston.

Những genotype khác được ẩn đi.

Tính đồng nhất (tương đồng) về kiểu gen của chủng vắc xin POLYVAC\_AIK-C và chủng vắc xin chuẩn (gốc) AIK-C 266286 là gần nhất trên cùng một nhánh và cùng với các chủng vắc xin khác tạo thành nhánh chung riêng rẽ khác biệt với chủng hoang dại Edmonston-wt.USA/54.4 và đều thuộc kiểu gene A (Genotype A) khi phân tích trên cây di truyền đa dạng.

### 3.3 Kết quả tính ổn định công hiệu vắc xin sởi dự tuyển MCQG M01-07 theo thời gian khi bảo quản ở nhiệt độ tối ưu -70°C (2009-2017)



**Hình 2:** Tính ổn định của vắc xin sởi dự tuyển MCQG M01-07 từ năm 2009-2017 trong điều kiện bảo quản tối ưu -70°C

Kết quả hiệu giá (công hiệu) của lô vắc xin sởi dự tuyển MCQG M01-07 theo thời gian từ 2009 (4,55 log<sub>10</sub> PFU/ 0,5ml) đến 2017 (4,39 log<sub>10</sub> PFU/ 0,5ml) vẫn đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn và các kết quả tính ổn định công hiệu qua các năm đều nằm trong khoảng tin cậy GM±2SD khi bảo quản ở nhiệt độ tối ưu -70°C.

**Bảng 4:** Phần trăm giảm hiệu giá (công hiệu) của vắc xin sởi dự tuyển MCQG M01-07 từ năm 2009-2017 trong điều kiện bảo quản tối ưu -70°C

Năm thực hiện	Kết quả trung bình (logPFU/0,5ml)	Giá trị ban đầu	Tỉ lệ % giảm
2009	4,55	4,55	
2010	4,48		1,61
2011	4,48		1,65
2012	4,48		1,64
2013	4,44		2,42
2014	4,43		2,64
2015	4,42		2,93
2016	4,41		3,07
2017	4,39		3,40

Giá trị hiệu giá trung bình của mẫu chuẩn dự tuyển sau sản xuất năm 2009 là 4,45 log<sub>10</sub> PFU/ 0,5ml và có giá trị thay đổi qua các năm như sau: năm 2010 giảm 1,61%, 2011 giảm 1,65%, 2012 giảm 1,64%, 2013 giảm 2,42%, 2014 giảm 2,64%, 2015 giảm 2,93%, 2016 giảm 3,07%, 2017 giảm 3,40% (4,39 log<sub>10</sub> PFU/ 0,5ml) so với sau khi sản xuất.

## IV. BÀN LUẬN

Mẫu chuẩn sau khi sản xuất cần phải được kiểm tra đánh giá chất lượng, đạt các tiêu chuẩn xuất xưởng như vắc xin theo qui định của TCYTTG và Dược điển Việt Nam IV cho vắc xin sởi bao gồm các thử nghiệm: Nhận dạng, tính chất vật lý, độ ẩm tồn dư, vô trùng, mycoplasma, công hiệu và ổn định nhiệt.

Kết quả kiểm tra chất lượng xuất xưởng lô vắc xin sởi dự tuyển MCQG RM 01-07 cho thấy đạt các yêu cầu tất cả các tiêu chí đặt ra theo qui định bao gồm các thử nghiệm: tính chất vật lý, độ ẩm tồn dư, nhận dạng hình thái vi rút sởi bằng phương pháp miễn dịch huỳnh quang, vô trùng, mycoplasma, và hiệu giá (công hiệu) theo phương pháp PFU được chuyển giao từ nhà sản xuất Nhật Bản, và tính ổn định nhiệt. Các kết quả nghiên cứu cho thấy vắc xin mẫu chuẩn sởi lô RM-01-07 đạt các tiêu chuẩn đánh giá chất lượng xuất xưởng của vắc xin sởi theo qui định của NICVB và TCYTTG và Dược điển Việt Nam IV. Do vậy, theo qui định lô vắc xin sởi dự tuyển MCQG M01-07 trên đạt yêu cầu và đủ tiêu chuẩn lựa chọn cho nghiên cứu đánh giá tiếp để công nhận là vắc xin sởi MCQG Việt Nam theo các qui định chất lượng của Quốc tế và Việt Nam.

Nhận dạng đặc hiệu chủng vắc xin và yêu cầu bắt buộc và quan trọng và nó được thực hiện ngay cả các kiểm định thường qui xuất xưởng và thậm chí ngay cả trong các trường hợp có sự cố sử dụng vắc xin trên thị trường cũng được áp dụng để chứng minh rằng chủng vắc xin này là đúng và đồng nhất hoặc không bị đột biến với chủng gốc sản xuất vắc xin. Ngoài ra do đặc thù về cấu trúc gene và tính sinh miễn dịch của vi rút sởi chỉ có một serotype (typ huyết thanh) và ổn định lâu bền sau nhiều năm về tính miễn dịch, do đó sau khi nhiễm trùng tự nhiên, bệnh nhân có miễn dịch bảo vệ suốt đời [2]. Thực tế hiện nay có nhiều nhà sản xuất khác nhau sử dụng nhiều chủng sản xuất vắc xin khác nhau và có nguồn gốc khác nhau. Tuy nhiên đều có xuất phát từ chủng gốc hoang dại Edmonston và thuộc genotype A mặc dù có nguồn gốc địa lý và lịch sử khác nhau.

Nghiên cứu tiến hành sử dụng kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới (NGS) toàn bộ genome của chủng vắc xin sởi POLYVAC\_AIK-C, sau đó so sánh về tính đồng nhất trình tự nucleotide và aa ở vùng mã hóa và không mã hóa, phân tích tính đồng nhất về kiểu gene trên cây di truyền sinh học với chủng chuẩn (gốc) AIK-C 266286 và 09 chủng sản xuất vắc xin khác (Zagreb, Edmonston-Enders, Schwarz, Moraten, Rubeovax, Leningrad-4, Shanghai-191, CAM-70, and Changchun-47 và 01 chủng sởi hoang dại (Edmonston-wt. USA. 54/A) cho kết quả chứng minh chủng sản xuất vắc xin sởi dự tuyển MCQG M01-07 (POLYVAC\_AIK-C) có tính đồng nhất cao nhất và tương đồng về trình tự nucleotide, aa và đồng nhất về kiểu gene khi so sánh với chủng chuẩn (gốc) từ nhà sản xuất chuyển giao Kitasato, Nhật Bản là chủng AIK-C 266286 như sau:

Ở vùng mã hóa, chủng POLYVAC\_AIK-C là tương đồng gần nhất với chủng chuẩn (gốc) AIK-C 266286, chỉ có 4 điểm khác biệt ở cả cấp độ nucleotide và aa, sự khác biệt giữa hai chủng AIK-C có thể là do sự khác biệt trong quá trình nuôi cấy sản xuất ra các lô chủng làm việc (Working) khác nhau sử dụng sản xuất vắc xin. Hơn nữa, kết quả cho thấy chủng POLYVAC\_AIK-C gần hơn với chủng vắc xin thuộc nhánh Edmonston, và xa nhất là chủng CAM-70. Điều này phù hợp với cây phát sinh loài (Hình 1) và phù hợp với nghiên cứu trước đây [3]. Chủng POLYVAC\_AIK-C đã bị giảm độc lực hoàn toàn và ổn định về mặt di truyền. So với các dòng giảm độc lực một phần như Shanghai-191 và Changchun-47, chủng POLYVAC\_AIK-C có số lượng thay đổi cao nhất. Các kết quả này cũng phù hợp với những nghiên cứu khác và chúng tôi đồng ý với Banker và các đồng nghiệp rằng không chỉ mình các số thay đổi này làm giảm độc lực như Zagreb – một chủng hoàn toàn giảm độc lực nhưng lại có sự thay đổi rất ít so với Edmonston hoang dại [3]. Chủng khác biệt nhất của dòng POLYVAC\_AIK-C là CAM-70, có thể là do số lượng các đời cấy chuyển từ các tế bào gốc, dòng tế bào, nuôi cấy và có thể là các điều kiện khác. Tuy nhiên, mặc dù khác nhau trong lịch sử phát triển (số đời cấy chuyển, điều kiện nhiệt độ, dòng tế bào, và có thể những điều kiện khác), chủng POLYVAC\_AIK-C vẫn tương đồng với các dòng chủng vắc xin khác sử dụng trong nghiên cứu.

Ở các vùng không mã hoá, ở trình tự aa, chủng POLYVAC\_AIK-C và chủng chuẩn (gốc) AIK-C 266286 đồng nhất và giống nhau nhất, sự khác biệt lớn nhất là Edmonston hoang dại. Sự

khác biệt giữa các dòng vắc xin POLYVAC\_AIK-C với các chủng thuộc nhánh Edmonston và không thuộc nhánh Edmonston không đáng kể, từ 3-5 aa. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu khác trước đây cho rằng vùng không mã hóa có thể không có vai trò quyết định trong sự giảm độc lực [4]. Bankamp và các đồng nghiệp đã thảo luận rằng mặc dù không chắc chắn vai trò trong sự giảm độc lực, ở vị trí nucleotide 26 và 42 trong trình tự đầu có thể ảnh hưởng đến sự nhân lên của virus và là yếu tố quyết định chính để phân biệt giữa các chủng vắc-xin và hoang dại [5]. Giống như các dòng vắc xin khác, POLYVAC\_AIK-C có cả thay đổi ở nucleotide A26T và A42T, do đó, nghiên cứu này có thể khẳng định rằng chủng vi rút nghiên cứu với chủng chuẩn (gốc) AIK-C 266286 từ nhà sản xuất chuyển giao Kitasato, Nhật Bản đều cùng một chủng sản xuất vắc xin.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy chủng vắc xin sởi dự tuyển MCQG M01-07 (POLYVAC\_AIK-C) thuộc về nhánh của nhóm chủng thuộc kiểu gen A, phù hợp với các nghiên cứu trước và đều có nguồn gốc cũng như đồng nhất về kiểu gen khi so sánh với các chủng vắc xin Edmonston. Trên cây đa dạng kiểu gen (hình 1) cũng cho thấy chủng POLYVAC\_AIK-C đồng nhất và gần nhất khi nhóm kiểu gene với chủng chuẩn (gốc) AIK-C 266286 với khoảng cách nhỏ nhất khi so sánh với các chủng vắc xin và chủng hoang dại. Điều này hoàn toàn hợp lý vì cả hai chủng này đều có cùng nguồn gốc và sự thích nghi nuôi cấy tương tự. Dòng POLYVAC\_AIK-C gần với Leningrad-4, các dòng Zagreb, nhưng xa nhất với các dòng CAM-70, Shanghai-192 và Changchun-47.

Nhận dạng đặc hiệu và phân tích tính đồng nhất về trình tự nucleotide và acide amin và tính đồng nhất về kiểu gene trên cây sinh học giữa chủng vắc xin sởi dự tuyển MCQG M01-07 (POLYVAC\_AIK-C) khi so sánh với chủng gốc (chuẩn) AIK-C 266286 và các chủng vắc xin khác cùng với chủng sởi hoang dại cho thấy kết quả chủng POLYVAC\_AIK-C đồng nhất và tương đồng cao nhất không có sự thay đổi đáng kể về trình tự nucleotide và aa cũng như đồng nhất cao nhất về kiểu gene chúng mình rằng chủng sử dụng sản xuất vắc xin sởi dự tuyển MCQG (POLYVAC\_AIK-C) có nguồn gốc từ chủng chuẩn từ nhà sản xuất AIK-C 266286.

Chất lượng của vắc xin được thể hiện qua đồ thị xu hướng kết quả kiểm định. Khi phân tích xu hướng các chỉ số định lượng, TCYTTG và nhiều nhà sản xuất cũng như cơ quan kiểm định quốc

gia trên thế giới sử dụng đồ thị Shewhart đánh giá độ ổn định của một bộ số liệu kết quả kiểm định dựa vào các khoảng sau: Vùng ngoài khoảng trung bình ( $GM \pm 3SD$ ) được gọi là vùng hành động. Nếu có 1 điểm nằm ngoài vùng này: Cần phải cân nhắc xem xét việc đưa vắc xin đó vào sử dụng, tiến hành điều tra nguyên nhân và đưa giải pháp khắc phục phòng ngừa.

Vùng ngoài khoảng ( $GM \pm 2SD$ ) là vùng cảnh báo. Nếu có điểm rơi vào vùng này cũng phải tìm nguyên nhân để khắc phục phòng ngừa.

Các số liệu được trình bày trong hình 2 thể hiện được rõ sự ổn định của vắc xin sởi MCDT khi các điểm đều nằm trong khoảng giới hạn ( $GM \pm 2SD$ ). Không có điểm nào rơi vào giới hạn cảnh báo và giới hạn hành động. Hiệu giá của vắc xin sởi mẫu chuẩn dự tuyển MCQG qua các năm bảo quản có sự giảm dần, tuy nhiên vẫn còn cách rất xa tiêu chuẩn của mẫu chuẩn. Hơn thế nữa theo tiêu chuẩn của TCYTTC đối với MCQG thì sự giảm hiệu giá mỗi năm <10%, trong khi đó sau khi bảo quản trong điều kiện  $-70^{\circ}C$  sau 8 năm (từ 2009 đến 2017) kết quả giảm chỉ có 3,40%. Như vậy vắc xin sởi mẫu chuẩn dự tuyển MCQG loạt số RM 01-07 có độ ổn định cao sau 8 năm bảo quản ở điều kiện nhiệt độ  $-70^{\circ}C$ .

## V. KẾT LUẬN

- Vắc xin sởi MCDT có độ ổn định chất lượng tốt:  
• Vắc xin sởi MCDT đạt các tiêu chí đánh giá chất lượng của vắc xin sởi xuất xưởng theo tiêu chuẩn đánh giá của TCYTTC.

• Chủng sản xuất vắc xin sởi POLYVAC – AIK-C thuộc về kiểu gen A, giảm độc lực hoàn toàn, không độc, không thay đổi trong kháng nguyên.

- Vắc xin sởi MCDT có độ ổn định công hiệu cao trong điều kiện bảo quản  $-70^{\circ}C$ .

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bernard D Davis, Renato Dulbecco, Herman N Eisen, and e. al**, Microbiology, fourth ed. Philadelphia : Lippincott, 1990.
2. **Nguyễn Thị Thường**, "Nghiên cứu sản xuất các gam chuẩn cho RT-PCR, ứng dụng trong chẩn đoán cúm và kiểm định công hiệu vắc xin sởi," Luận án Tiến sỹ y học, 2014.
3. **Huỳnh Phương Liên và cs.**, Chẩn đoán xác định dịch sởi 1998, phân tích đặc điểm di truyền của virus sởi lưu hành tại miền Bắc Việt Nam. Tuyển tập công trình 1997-2000 viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương: Nhà xuất bản Y học, 2000.
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. Pt 9, pp. 2143-2150, Sep 2001.
5. **B. Bankamp, M. Takeda, Y. Zhang, W. Xu, and P. A. Rota**, "Genetic characterization of measles vaccine strains," J Infect Dis, vol. 204 Suppl 1, pp. S533-48, Jul 2011.

# ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT LƯỢNG TINH DỊCH TỚI TỶ LỆ THỤ TINH TRONG THỤ TINH TRONG ỐNG NGHIỆM TẠI TRUNG TÂM HTSS & CN MÔ GHEP BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI NĂM 2020 – 2021

Lê Ngọc Dung\*, Trịnh Thị Ngọc Yến\*, Đỗ Thùy Hương\*

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** đánh giá ảnh hưởng của tinh dịch đồ lên tỷ lệ thụ tinh của thụ tinh trong ống nghiệm. **Đối tượng và phương pháp:** nghiên cứu hồi cứu trên 660 cặp vợ chồng làm thụ tinh trong ống nghiệm (TTTON) từ 11/2020 đến 12/2021. So sánh tỷ lệ thụ tinh của noãn trưởng thành (MII) giữa các nhóm: tinh trùng thủ dâm và tinh trùng trích xuất; tinh trùng tươi và tinh trùng đông lạnh; tinh trùng yếu, tinh trùng ít và tinh trùng dị dạng. **Kết quả:** Tỷ lệ thụ tinh ở nhóm tinh trùng thủ dâm và tinh trùng trích xuất là  $0,78 \pm 0,20 \%$  và  $0,75 \pm 0,24 \%$  ( $p > 0,05$ ); ở nhóm

tinh trùng tươi và tinh trùng đông lạnh là  $0,77 \pm 0,20 \%$  và  $0,81 \pm 0,16 \%$  ( $p > 0,05$ ). Tỷ lệ thụ tinh ở nhóm tinh trùng yếu (1), tinh trùng ít (2) và tinh trùng dị dạng (3) lần lượt là:  $0,80 \pm 0,20 \%$ ,  $0,68 \pm 0,27 \%$  và  $0,81 \pm 0,18 \%$ . ( $p^{2-3} < 0,05$ ). **Kết luận:** đông lạnh tinh trùng và kỹ thuật lấy mẫu tinh dịch không làm ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh khi làm TTTON. Bất thường về mật độ tinh trùng làm giảm rõ rệt tỷ lệ thụ tinh của noãn trưởng thành so với bất thường về hình thái.

**Từ khóa:** Tỷ lệ thụ tinh, tinh trùng, thụ tinh trong ống nghiệm

## SUMMARY

### TO ASSESS THE EFFECT OF SEMEN ON THE FERTILIZATION RATE OF IN VITRO FERTILIZATION

**Objectives:** To assess the effect of semen on the fertilization rate of in vitro fertilization. **Subjects and methods:** Retrospective study of 660 in vitro fertilization couples from 11/2020 to 12/2021.

\*Trung tâm hỗ trợ sinh sản và công nghệ mô ghép-Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Lê Ngọc Dung

Email: lengocdung254@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.2.2022

Ngày phản biện khoa học: 30.3.2022

Ngày duyệt bài: 14.4.2022