

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

LÊ THỊ HÒA

THẨM ĐỊNH QUY TRÌNH NHẬN DẠNG 10 TÝP
KHÁNG NGUYÊN PHỄ CẦU TRONG VẮC XIN
SYNFLORIX™

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Hà Nội - 2015

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

LÊ THỊ HÒA

THẨM ĐỊNH QUY TRÌNH NHẬN DẠNG 10 TÝP
KHÁNG NGUYÊN PHÉ CẦU TRONG VẮC XIN
SYNFLORIX™

Chuyên ngành : Động vật học (Vi sinh vật học)

Mã số : 60420103

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học: TS. Phạm Văn Hùng

Hà Nội - 2015

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan: Luận văn “**Thẩm định quy trình nhận dạng 10 tít kháng nguyên phế cầu trong vắc xin Synflorix™**” là công trình nghiên cứu của cá nhân tôi thực hiện dưới sự hướng dẫn của TS. Phạm Văn Hùng. Các nội dung nghiên cứu và kết quả được trình bày trong luận văn là trung thực và rõ ràng.

Hà Nội, ngày 29/10/2015

Học viên

Lê Thị Hòa

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới giáo viên hướng dẫn: TS. Phạm Văn Hùng, Phó viện trưởng Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế đã tận tình hướng dẫn và truyền dạy nhiều kiến thức quý báu đồng thời luôn động viên và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy, cô giáo và các đồng nghiệp tại Viện Sinh Thái và Tài Nguyên Sinh Vật-Viện Hàn Lâm Khoa học và Công Nghệ Việt Nam đã giúp đỡ, chia sẻ và truyền đạt cho tôi nhiều kiến thức bổ ích trong quá trình tôi học tập tại Viện.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn tới các anh, chị đồng nghiệp Khoa Quản lý chất lượng Viện kiểm định quốc gia vắc xin và sinh phẩm y tế đã luôn động viên, chia sẻ và hỗ trợ công việc để tôi có điều kiện học tập và thực hiện tốt đề tài nghiên cứu và luận văn này.

Nhân dịp này tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc tới Ban Lãnh đạo Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế, Ths. Lưu Anh Thư và các đồng nghiệp Khoa Kiểm định vắc xin Vi khuẩn, phòng Tổ chức cán bộ, phòng Khoa học và Đào tạo đã luôn hỗ trợ và tạo điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, làm việc để tôi hoàn thành luận văn này.

Đặc biệt, tôi xin dành những tình cảm thân thương nhất gửi tới gia đình của tôi, những người đã luôn bên tôi, ủng hộ, động viên tôi trong suốt quá trình học tập và hoàn thành luận văn này.

Xin trân trọng cảm ơn !

Học viên

Lê Thị Hòa

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
BSA	Bovine Serum Albumin	Huyết thanh bò
CV	Coefficient Variation	Hệ số biến thiên
DT	Diphtheria toxoid	Giải độc tố Bạch Hầu
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent assay	Phương pháp miễn dịch gắn Enzyme
EU	European Union	Liên hiệp Châu âu
GMP	Good Manufacturing Practice	Thực hành sản xuất tốt
GSK	Glaxo Smith Kline	
ICH	International Conference on Harmonization	Hiệp hội quốc tế về hài hòa kỹ thuật về Dược phẩm
IEC	International Electrotechnical Commission	Ủy ban kỹ thuật điện quốc tế
ISO	International Organization for Standardization	Tổ chức tiêu chuẩn quốc tế
IU	Internationnal Unit	Đơn vị quốc tế
KKT		Kháng kháng thể
KN		Kháng nguyên
KT		Kháng thể
LAL	Limulusamoebocyte lysate	
LOD	Limit of detection	Giới hạn phát hiện
LOQ	Limit of Quantitation	Giới hạn định lượng
OD	Optic density	Độ hấp thu của mẫu thử

PCV	Pneumococcal Polysaccharide vaccine	Vắc xin phế cầu cộng hợp
PD		Protein D
PPV	Pneumococcal polysaccharide vaccine	Vắc xin phế cầu polysaccharide
PS	Polysaccharide	
SD	Standard Deviation	Độ lệch chuẩn
SOP	Standard Operating Procedure	Quy trình chuẩn
NICVB	National Institute for Control of Vaccine and Biologicals	Viện kiểm định quốc gia vắc xin và sinh phẩm y tế
NTHi	Non-typeable <i>H. influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> không định týp
TB		Giá trị trung bình
TMB	Tetramethylbenzidine	Cơ chất
TRS	Technical Report Series	Báo cáo kỹ thuật
TT	Tetanus toxoid	Giải độc tố uốn ván
TTB		Trang thiết bị
WHO	World Health Organization	Tổ chức Y tế Thế giới
USP	United States of Pharmacopeia	Dược điển Mỹ

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN.....	4
1.1. Phế cầu khuẩn và một số bệnh gây bởi phế cầu khuẩn.....	4
1.1.1. Phế cầu khuẩn.....	4
1.1.2. Một số bệnh gây bởi phế cầu khuẩn.....	7
1.2. Vắc xin phế cầu và vắc xin Synflorix™	7
1.2.1. Vắc xin phế cầu	7
1.2.2. Vắc xin Synflorix™	10
1.3. Phương pháp phân tích miễn dịch sử dụng emzym đánh dấu	15
1.3.1. Nguyên lý chung	15
1.3.2. Một số phương pháp ELISA	15
1.4. Thẩm định quy trình.....	18
1.4.1. Định nghĩa thẩm định quy trình	18
1.4.2. Phân loại thẩm định quy trình	19
1.4.3. Các thông số trong thẩm định quy trình	23
1.5. Thẩm định quy trình nhận dạng 10 týp kháng nguyên phế cầu trong vắc xin Synflorix™ bằng phương pháp ELISA.....	27
CHƯƠNG 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	28
2.1. Đối tượng nghiên cứu	28
2.3. Phương pháp nghiên cứu	30
2.3.1. Thiết kế thử nghiệm.....	30
2.3.2. Cỡ mẫu	30
2.3.3. Quy trình nhận dạng 10 týp kháng nguyên phế cầu trong vắc xin Synflorix™ bằng phương pháp ELISA.....	30
2.3.4. Xây dựng quy trình thẩm định cho từng thông số và tiêu chuẩn chấp thuận của từng thông số cần thẩm định	34
2.3.5. Cách tính toán giá trị cut-off cho từng thông số.....	36

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ	37
3.1. Giới hạn phát hiện.....	37
3.2. Độ mạnh.....	44
3.3. Độ đặc hiệu	48
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN	60
4.1. Thử nghiệm có giá trị.....	60
4.2. Giới hạn phát hiện.....	60
4.3. Độ mạnh.....	62
4.4. Độ đặc hiệu	63
KẾT LUẬN	64
KIẾN NGHỊ	65
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Thành phần týp kháng nguyên phế cầu của vắc xin Synflorix™.	11
Bảng 1.2. Các thông số dùng trong thẩm định toàn phần	20
Bảng 1.3. Các thông số dùng trong thẩm định một phần.....	21
Bảng 1.4. Các thông số dùng trong tái thẩm định.....	22
Bảng 1.5. Các thông số dùng trong thẩm định.....	26
Bảng 2.1. Mẫu chuẩn, hóa chất sử dụng cho thí nghiệm	28
Bảng 2.2. Dụng cụ, thiết bị sử dụng cho thí nghiệm.....	29
Bảng 2.3. Công thức tính giá trị cut-off cho từng thông số	36
Bảng 3.1. Giới hạn phát hiện của thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 1 qua 6 lần thử nghiệm.....	37
Bảng 3.2. Giới hạn phát hiện của thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 4 qua 6 lần thử nghiệm.....	38
Bảng 3.3. Giới hạn phát hiện của thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 7F qua 6 lần thử nghiệm.....	38
Bảng 3.4. Giới hạn phát hiện của thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 14 qua 6 lần thử nghiệm.....	39
Bảng 3.5. Giới hạn phát hiện của thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 19F qua 6 lần thử nghiệm	40
Bảng 3.6. Giới hạn phát hiện của thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 5 qua 6 lần thử nghiệm.....	40
Bảng 3.7. Giới hạn phát hiện của thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 9V qua 6 lần thử nghiệm.....	41
Bảng 3.8. Giới hạn phát hiện của thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 18C qua 6 lần thử nghiệm.....	42
Bảng 3.9. Giới hạn phát hiện của thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 6B qua 6 lần thử nghiệm.....	42

Bảng 3.10. Giới hạn phát hiện của thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 23F qua 6 lần thử nghiệm	43
Bảng 3.11. Kết quả 6 lần thử nghiệm nhận dạng 10 týp kháng nguyên phế cầu...45	
Bảng 3.12. Kết quả 6 lần thử nghiệm nhận dạng 10 týp kháng nguyên do 2 người thực hiện	47
Bảng 3.13. Kết quả 6 lần thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 1 của 3 mẫu thử	49
Bảng 3.14. Kết quả 6 lần thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 4 của 3 mẫu thử	50
Bảng 3.15. Kết quả 6 lần thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 7F của 3 mẫu thử	51
Bảng 3.16. Kết quả 6 lần thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 14 của 3 mẫu thử	52
Bảng 3.17. Kết quả 6 lần thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 19F của 3 mẫu thử	53
Bảng 3.18. Kết quả 6 lần thử nghiệm nhận dạng týp 5 của 3 mẫu thử.....	54
Bảng 3.19. Kết quả 6 lần thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 9V của 3 mẫu thử	55
Bảng 3.20. Kết quả 6 lần thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 18C của 3 mẫu thử	56
Bảng 3.21. Kết quả 6 lần thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 6B của 3 mẫu thử	57
Bảng 3.22. Kết quả 6 lần thử nghiệm nhận dạng kháng nguyên týp 23F của 3 mẫu thử	58
Bảng 4.1. Giới hạn phát hiện của từng týp kháng nguyên phế cầu.....	61