

STUDY ON THE PRODUCTION PROCESS OF SINGLE DOSE MEASLES-RUBELLA COMBINED VACCINE AT POLYVAC

Nguyen Thuy Huong*, Le Thi Hoa, Le Quoc Hung, Ngo Thu Huong, Nguyen Dang Hien

Center for research and production of vaccines and biologicals, Hanoi

Received 15/04/2021

Revised 20/04/2021; Accepted 28/04/2021

ABSTRACT

Center for Research and Production of Vaccines and Biologicals (POLYVAC) has conducted “Study on the production process of single dose measles-rubella combined vaccine (MRVAC)” (1dose/vial) in lyophilized form to make it convenient to use for vaccination services and export. The results have determined the formulation of MRVAC final bulk, freeze-dried process. The quality of researched products met WHO and Vietnam Pharmacopoeia V standards in both visual tests of lyophilized vaccine cake and after being reconstituted with sterile water for injection, the titer of measles virus ranges from 4.03 to 4.28 lgPFU/0.5mL and titer of rubella virus is from 3.79 to 3.98 lgPFU/0.5 mL. Results on thermal stability test when incubating the vaccine at 37°C/7days, the titer of measles virus decreased from 0.79 to 0.96 lgPFU/ 0.5mL and titer of rubella virus decreased from 0 to 0.18 lgPFU/0.5mL. Residual moisture content ranges from 0.35 to 0.72%. pH of vaccine is stable, ranges from 7.42 to 7.62.

Keywords: Measles - Rubella combined vaccine, MRVAC, freeze-dried.

*Corresponding author

Email address: huong72us@yahoo.com

Phone number: (+84) 912 514 309

<https://doi.org/10.52163/yhcd.v62i4.103>



NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH SẢN XUẤT VẮC XIN PHỐI HỢP SỞI – RUBELLA ĐƠN LIỀU TẠI POLYVAC

Nguyễn Thúy Hương*, Lê Thị Hòa, Lê Quốc Hùng, Ngô Thu Hương, Nguyễn Đăng Hiền

Trung tâm Nghiên cứu, Sản xuất Vắc xin và Sinh phẩm Y tế, Hà Nội

Ngày nhận bài: 15 tháng 04 năm 2021

Chỉnh sửa ngày: 20 tháng 04 năm 2021; Ngày duyệt đăng: 28 tháng 04 năm 2021

TÓM TẮT

Trung tâm Nghiên cứu, Sản xuất Vắc xin và Sinh phẩm Y tế (POLYVAC) đã tiến hành “Nghiên cứu quy trình sản xuất vắc xin phối hợp sởi-rubella (MRVAC) đơn liều” (1 liều/lọ) dạng đông khô nhằm giúp thuận tiện khi sử dụng cho tiêm chủng dịch vụ và xuất khẩu. Kết quả nghiên cứu đã xác định được công thức pha vắc xin MRVAC bán thành phẩm cuối cùng, quy trình đông khô. Chất lượng sản phẩm nghiên cứu đều đạt tiêu chuẩn của WHO và dược điển Việt Nam V cả về cảm quan bánh vắc xin đông khô và sau khi được hồi chính bằng nước vô trùng pha tiêm, hiệu giá virus sởi dao động từ 4,03 đến 4,28 lgPFU/0,5mL và rubella từ 3,79 đến 3,98 lgPFU/0,5mL. Kết quả nghiên cứu độ ổn định nhiệt khi ủ vắc xin ở 37°C/7 ngày thì hiệu giá của virus sởi giảm dao động từ 0,79 đến 0,96 lgPFU/0,5mL và hiệu giá virus rubella giảm từ 0 đến 0,18 lgPFU/0,5mL đều đạt tiêu chuẩn. Độ ẩm tồn dư dao động từ 0,35 đến 0,72 %, pH vắc xin ổn định, dao động từ 7,42 đến 7,62.

Từ khóa: Vắc xin phối hợp Sởi – Rubella, MRVAC, đông khô.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sởi và rubella là các bệnh truyền nhiễm cấp tính do virus sởi và virus rubella gây nên. Sởi là một căn bệnh nguy hiểm rất dễ lây lan, trước khi vắc xin sởi được sử dụng vào năm 1963 và triển khai tiêm chủng rộng rãi, các vụ dịch lớn xảy ra 2-3 năm một lần. Bệnh sởi gây ra khoảng 2,6 triệu ca tử vong mỗi năm trên toàn thế giới [1]. Bệnh Rubella còn có tên là bệnh Rubeon hay bệnh Sởi Đức. Rubella có đặc điểm là hay gây thành dịch và phát ban giống sởi, mặc dù bệnh lành tính nhưng lại nguy hiểm cho phụ nữ có thai nhất là vào 3 tháng đầu vì gây ra các dị tật bẩm sinh cho thai nhi. Tiêm phòng vắc xin là biện pháp chủ động và hữu hiệu để phòng

bệnh sởi và rubella.

POLYVAC đã nhận chuyển giao thành công công nghệ sản xuất vắc xin Sởi (MVVAC) và vắc xin phối hợp sởi-rubella (MRVAC) dạng đông khô, đóng ống 10 liều/lọ (đa liều) của Chính phủ Nhật Bản. Vắc xin MVVAC đã được cấp phép lưu hành vào tháng 12/2009 và vắc xin MRVAC đã được cấp phép lưu hành vào tháng 3/2017. POLYVAC cũng là đơn vị đầu tiên tại Việt Nam đạt tiêu chuẩn Thực hành sản xuất tốt (GMP) dây chuyền sản xuất vắc xin theo yêu cầu WHO do Bộ Y tế Việt Nam chứng nhận.

Vắc xin MRVAC ở dạng đông khô đa liều, trước khi dùng sẽ được hồi chính bằng nước pha tiêm, bảo quản

*Tác giả liên hệ

Email address: huong72us@yahoo.com

Điện thoại: (+84) 912 514 309

<https://doi.org/10.52163/yhcd.v62i4.103>

ở 2 - 8°C và sử dụng trong vòng 6 giờ. Nếu không dùng hết trong khoảng thời gian trên, sản phẩm phải bỏ đi. Thực tế khi sử dụng cho chương trình TCMR ở những địa bàn có ít trẻ tiêm và cho tiêm chủng dịch vụ thường sẽ không dùng hết 10 liều trong khoảng thời gian 6 giờ, thậm chí 1 lọ 10 liều chỉ sử dụng được cho 1 người gây lãng phí. Chính vì vậy POLYVAC đã thực hiện nghiên cứu quy trình sản xuất vắc xin phối hợp MRVAC đơn liều (1 liều/1 lọ) nhằm mục đích thiết lập được công thức pha và quy trình sản xuất vắc xin đơn liều để ứng dụng vào sản xuất, giúp đa dạng hóa quy cách đóng liều để tối ưu việc sử dụng, tránh lãng phí sản phẩm.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Công thức pha vắc xin sởi - rubella bán thành phẩm cuối cùng (MRFB), chương trình đông khô và vắc xin MRVAC thành phẩm đơn liều.

2.2. Thiết bị, dụng cụ, nguyên vật liệu

Nguyên liệu: Vắc xin sởi, rubella bán thành phẩm, dung dịch pha loãng vắc xin (POLYVAC). Các nguyên liệu được kiểm tra chất lượng đạt tiêu chuẩn trước khi sử dụng.

Thiết bị và dụng cụ: Hốt vô trùng (Nhật Bản), máy đo nhiệt độ bề mặt tank (Đài Loan), máy rửa lọ (Hãng Bosch), máy đóng ống (Nhật Bản), máy máy đông khô (Hãng Bosch), máy dập nắp nhôm (Nhật Bản), máy dán nhãn (Nhật Bản), máy khuấy (Nhật Bản), cân điện tử (Đức) và các dụng cụ cần thiết khác. Các thiết bị sử dụng đều từ những hãng/nước uy tín trên thế giới, chuẩn định kỳ hàng năm và đạt tiêu chuẩn.

2.3. Thiết kế nghiên cứu

Bảng 1. Công thức pha vắc xin vắc xin phối hợp sởi-rubella bán thành phẩm cuối cùng

Thành phần	Nồng độ (%)	
	Công thức 1	Công thức 2
Lactose	3,5	5,0
D-Sorbitol	1,26	1,8
L-Sodium glutamate	0,7	0,56
Hydrolized Gelatin	0,63	0,504
Thể tích đóng ống (mL)	0,4	0,5
Thể tích nước hồi chỉnh vắc xin (mL)	0,7	

Bảng 2. Thiết kế chương trình đông khô lọ vắc xin đơn liều

Bước	Quy trình	Nhiệt độ (°C)	Chân không (mbar)	Thời gian (giờ)
1.	Làm lạnh giá	5	9999	0h20'
2.	Làm lạnh sản phẩm	-50	9999	3h30'
3.	Hút chân không	-50	40	1h30'
4.	Làm khô sản phẩm	-17	40	0h01'
5.	Làm khô sản phẩm	-17	40	25h00'
6.	Làm khô sản phẩm	0	1	9h00'
7.	Làm khô sản phẩm	30	1	24h00'
8.	Làm khô sản phẩm	35	1	16h02'
9.	Xả khí Ni tơ			0h45'
10.	Dập nút cao su toàn phần			0h50'
Tổng thời gian				80h18'

Các lô vắc xin thử nghiệm pha theo 2 công thức ở trên sau đông khô sẽ được lấy mẫu kiểm tra chất lượng các chỉ số quan trọng như: cảm quan, hiệu giá, ổn định nhiệt, độ ẩm tồn dư, pH và đối chiếu theo tiêu chuẩn cơ sở của vắc xin MRVAC thành phẩm.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp pha vắc xin MRFB

- Nguyên liệu: Bán thành phẩm sởi, rubella và dung dịch pha loãng (chứa các chất ổn định: Lactose, D-Sorbitol, L-Sodium glutamate, Hydrolized Gelatin).

- Công thức pha vắc xin MRFB tuân thủ theo quy trình chuẩn (SOP) đã được thiết lập tại POLYVAC.

- Quy trình thực hiện trong hốt vô trùng: Bơm lượng bán thành phẩm sởi, rubella đã tính toán vào tank và bổ sung lượng dung dịch pha loãng vắc xin đã tính toán ứng với tỉ lệ pha loãng tạo thành dung dịch vắc xin MRFB.

2.4.2. Phương pháp đông khô

Nguyên lý của đông khô: Qua 3 giai đoạn chính

- Giai đoạn 1: Đông băng - Làm lạnh sản phẩm cho đến khi đông băng hoàn toàn.

- Giai đoạn 2: Làm khô sơ cấp - Sản phẩm thăng hoa, chuyển từ trạng thái rắn sang trạng thái khí để loại bỏ nước trong sản phẩm.

- Giai đoạn 3: Làm khô thứ cấp - Tiếp tục loại nước trong sản phẩm.

2.4.3. Phương pháp lấy mẫu và xử lý mẫu:

- Lấy mẫu vào giai đoạn: Đầu, giữa, cuối quy trình sản xuất.

- Mẫu sẽ được chia cho từng thử nghiệm.

2.4.4. Phương pháp kiểm tra chất lượng: Thực hiện

kiểm tra chất lượng theo các quy trình chuẩn đã được phê duyệt tại POLYVAC.

- Kiểm tra cảm quan:

+ Quan sát lọ vắc xin có ánh sáng ≥ 1000 Lux bằng mắt thường. Tiêu chuẩn: Bánh vắc xin không bị vỡ nứt, không có dị vật lạ, không bị sùi hoặc co ngót bất thường, có màu trắng sữa.

+ Hồi chính vắc xin bằng nước vô trùng pha tiêm: bánh vắc xin tan hết, không có dị vật không tan. Thời gian hoàn nguyên ≤ 60 giây.

- Hiệu giá: Kiểm tra hiệu giá vắc xin bằng phương pháp tạo đám hoại tử - PFU (Plaque Focus Unit). Tiêu chuẩn: $\geq 3,0 \lg$ PFU/0,5ml

- Tiêu chuẩn về ổn định nhiệt: Ủ vắc xin ở $37^{\circ}\text{C}/7$ ngày, thử nghiệm là đạt khi chênh lệch về hiệu giá vắc xin ở $37^{\circ}\text{C}/7$ ngày so với hiệu giá vắc xin ở $2-8^{\circ}\text{C}$ giảm không quá $1 \lg$ PFU/0,5ml và hiệu giá vẫn đạt $\geq 3 \lg$ PFU/0,5ml.

- Độ ẩm tồn dư: Sử dụng phương pháp đo độ lệch trọng lượng bánh vắc xin trước và sau khi làm khô. Tiêu chuẩn $\leq 2\%$.

- pH: Sử dụng máy đo pH để kiểm tra các mẫu nghiên cứu, tiêu chuẩn pH: 6,8 – 8,5.

2.5. Phương pháp phân tích và đánh giá kết quả

Xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel, vẽ đồ thị, phân tích, đánh giá kết quả nghiên cứu. So sánh, đối chiếu kết quả nghiên cứu với các kết quả chất lượng MRVAC đang áp dụng cho dạng đóng lọ 10 liều để đưa ra kết luận.

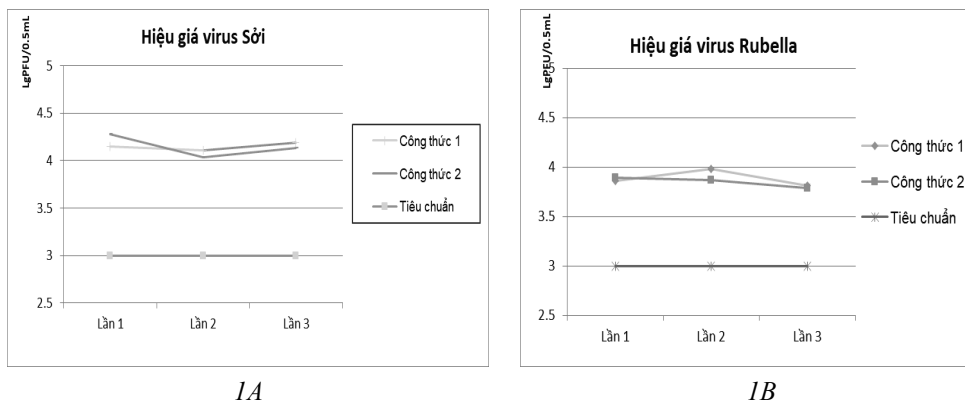
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CHẤT LƯỢNG VẮC XIN ĐƠN LIỀU

Bảng 3: Kết quả chất lượng sản phẩm của 2 công thức pha

Thử nghiệm	Tiêu chuẩn kỹ thuật	Công thức 1			Công thức 2			
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 1	Lần 2	Lần 3	
Cảm quan	- Bánh vắc xin không bị vỡ nứt, không có dị vật lạ, không bị sùi hoặc co ngót bất thường, vắc xin phải có màu trắng sữa. - Bánh vắc xin tan hết, không có dị vật không tan. - Thời gian hoàn nguyên ≤ 60 giây	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	
Hiệu giá	≥ 3 lg PFU/ 0,5 ml	Sởi	4,35	4,11	4,19	4,28	4,03	4,13
		Rubella	3,86	3,98	3,81	3,89	3,87	3,79
Ổn định nhiệt	Hiệu giá virus ở 37°C/7 ngày ≥ 3lg PFU/0,5ml và so với hiệu giá virus ở 2-8°C/7 ngày độ giảm hiệu giá ≤ 1 lg PFU/0,5 ml	Sởi	3,41	3,16	3,29	3,32	3,08	3,34
		Độ giảm hiệu giá sởi	0,94	0,95	0,9	0,96	0,95	0,79
		Rubella	3,78	3,8	3,78	3,75	3,88	3,72
		Độ giảm hiệu giá Rubella	0	0,18	0,03	0,14	0	0,07
Độ ẩm tồn dư	≤ 2%	0,72	0,47	0,35	0,59	0,43	0,39	
pH	6,80 ~ 8,5	7,5	7,62	7,42	7,46	7,48	7,6	

Số liệu ở bảng 3 cho thấy kết quả cảm quan bánh vắc xin ở cả 3 lần nghiên cứu ở mỗi công thức đều đạt tiêu chuẩn chất lượng.

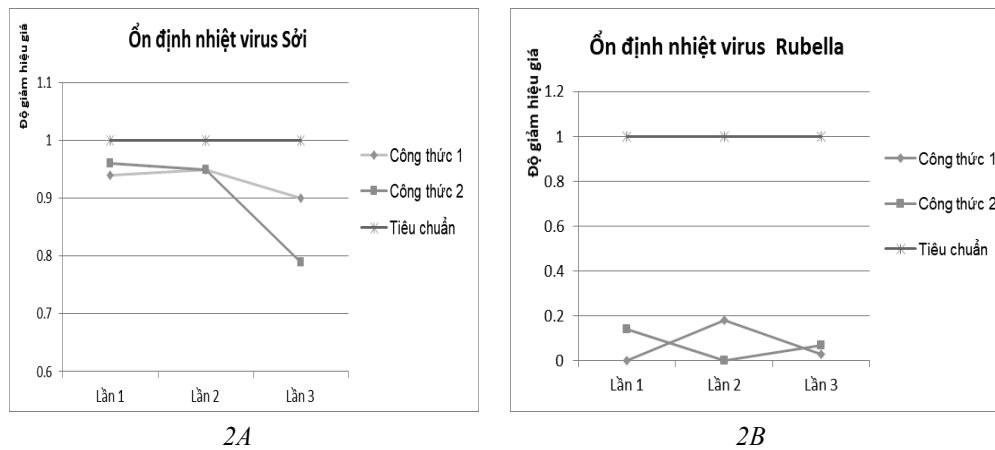
Hình 1. Kết quả hiệu giá



Kết quả ở bảng 3 và hình 1 cho thấy, hiệu giá virus sởi dao động từ 4,11-4,35 lg PFU/ 0,5 ml với công thức 1 và 4,03-4,28 lg PFU/ 0,5 ml với công thức 2. Hiệu giá virus rubella dao động từ 3,81-3,98 lg PFU/ 0,5 ml với công thức 1 và 3,79-3,89 lg PFU/ 0,5 ml với công thức

2 của vắc xin MRVAC liều đơn ở 3 lần thử nghiệm ở cả hai công thức đều ổn định và đạt tiêu chuẩn hiệu giá virus ≥ 3 lg PFU/0,5mL, đáp ứng tiêu chuẩn tham chiếu của WHO [2, 3].

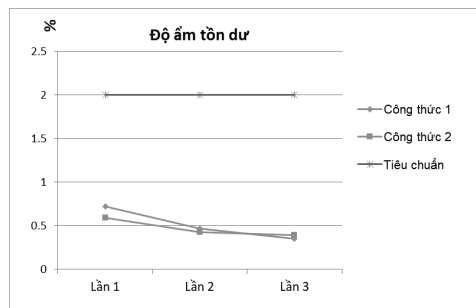
Hình 2. Kết quả ổn định nhiệt



Kết quả ở bảng 3 và hình 2 cho thấy, nghiên cứu tính ổn định nhiệt của vắc xin đơn liều, hiệu giá vắc xin khi ủ ở 37°C/7 ngày đạt tiêu chuẩn ≥ 3 lg PFU/0,5mL và so với hiệu giá để ở 2-8°C thì độ giảm hiệu giá virus ở 2 công thức đều đạt tiêu chuẩn ≤ 1 lgPFU/0,5mL đáp ứng tiêu chuẩn cơ sở trên cơ sở tham khảo tiêu chuẩn của WHO [2, 3]. Đối với virus sởi ở công thức 1 độ giảm hiệu giá dao động từ 0,9 đến 0,95 lgPFU/0,5mL và công thức 2 giảm từ 0,79 đến 0,96 lgPFU/0,5mL. Kết quả nghiên

cứu của chúng tôi cũng tương đương với kết quả nghiên cứu độ ổn định nhiệt của vắc xin ở lọ 10 liều dao động từ 0,74 đến 0,98 lgPFU/0,5mL [4, 5]. Đối với virus rubella do tính chất bền nhiệt hơn nên hiệu giá giảm rất ít. Công thức 1 độ giảm hiệu giá của virus rubella dao động từ 0 đến 0,18 lgPFU/0,5mL, công thức 2 độ giảm hiệu giá từ 0 đến 0,14 lgPFU/0,5mL, kết quả này cũng tương đương với kết quả nghiên cứu độ ổn định nhiệt của vắc xin MRVAC đóng lọ 10 liều [4].

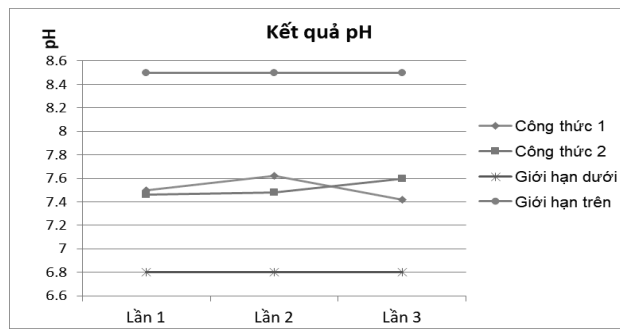
Hình 3. Kết quả độ ẩm tồn dư



Kết quả ở bảng 3 và hình 3 cho thấy độ ẩm tồn dư của vắc xin đóng ống đơn liều đều đạt tiêu chuẩn $\leq 2\%$ cả 3 lần nghiên cứu ở 2 công thức, độ ẩm tồn dư của vắc xin ở công thức 1 dao động từ 0,35 đến 0,72 %, công thức 2 dao động từ 0,39 đến 0,59%, kết quả này nằm

trong khoảng biến thiên thường quy đối với dạng đóng ống 10 liều hiện nay của POLYVAC từ 0,2 đến 1,1% [5] và thấp hơn nhiều so với tiêu chuẩn tham chiếu của WHO [2, 3].

Hình 4. Kết quả kiểm tra pH



Kết quả ở bảng 3 và hình 4 cho thấy pH của vắc xin đơn liều trong cả 3 lần nghiên cứu ở 2 công thức dao động từ 7,42 đến 7,62 giống với khoảng biến thiên kết quả pH của vắc xin đóng ống 10 liều hiện nay của POLYVAC và nằm trong khoảng giới hạn tiêu chuẩn cho phép [5].

4. BÀN LUẬN

Hơn 10 triệu liều vắc xin MRVAC đóng ống 10 liều của POLYVAC đã sử dụng để phòng bệnh sau khi được cấp phép lưu hành. Kết quả giám sát sau tiêm chủng vắc xin rất an toàn cho người sử dụng. Với nghiên cứu vắc xin MRVAC đóng ống đơn liều, hai công thức đưa ra ở mục 2.3 sau khi pha sẽ được đóng ống và đông khô theo chương trình đã thiết lập. Với công thức 1, vắc xin sau hồi chỉnh sẽ có thành phần, nồng độ các chất ổn định/1 liều 0,5 mL giống hệt với thành phần liều MRVAC đóng ống 10 liều của POLYVAC đang lưu hành trên thị trường hiện nay, với công thức 2 thì nồng độ chất ổn định Lactose và D-Sorbitol tăng 1,79 lần so với nồng độ trong 1 liều 0,5mL.

Kết quả nghiên cứu cho thấy cả hai công thức pha, vắc xin đều đạt tiêu chuẩn chất lượng về cảm quan, hiệu giá, ổn định nhiệt, độ ẩm tồn dư và pH và tương đương về chất lượng như vắc xin đóng ống 10 liều của POLYVAC hiện đang lưu hành [2, 4, 5, 6]. Như vậy cả hai công thức pha và chương trình đông khô đã thiết kế đều phù hợp để ứng dụng vào sản xuất vắc xin MRVAC đơn liều. Tuy nhiên vắc xin được dùng cho người nên khi có bất kỳ một sự thay đổi nhỏ trong quy trình sản xuất cũng như kiểm định, đều phải nghiên cứu, thẩm định và báo cáo với Bộ Y tế để xin phép thay đổi. Sự thay đổi về quy cách đóng ống từ 10 liều/1 lọ thành 1 liều/lọ là thay đổi quan trọng.

Nếu chỉ thay đổi về lượng đóng ống mà nồng độ các

chất không thay đổi so với sản phẩm MRVAC đang lưu hành hiện nay thì chỉ là thay đổi nhỏ, nhưng nếu tỉ lệ nồng độ chất ổn định bị thay đổi thì được coi là thay đổi lớn phải tiến hành bổ sung nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng, chi phí và chờ đợi thủ tục cấp phép cho sản phẩm được lưu hành [2, 6]. Do đó chúng tôi đề xuất sử dụng công thức pha số 1 để ứng dụng vào sản xuất.

Kết quả cũng cho thấy quy trình đông khô đã thiết lập cho dạng đóng ống đơn liều phù hợp và có thể ứng dụng vào sản xuất. Quy trình đông khô đã thiết lập cho dạng đóng ống đơn liều vẫn trên cơ sở chương trình đông khô cho dạng đóng ống lọ 10 liều, tuy nhiên có một số thay đổi về nhiệt độ và thời gian như sau: ở bước làm khô sơ cấp (bước 7) bổ sung dải nhiệt độ 30°C và thời gian làm khô 24 tiếng, và giảm thời gian đông khô ở bước 8. Tổng thời gian quá trình đông khô của lọ đóng ống đơn liều tăng khoảng 12 tiếng so với thời gian đông khô của lọ đa liều.

Với kết quả nghiên cứu và các phân tích ở trên, chúng tôi đề xuất sử dụng công thức pha 1 và chương trình đông khô nêu ở mục 2.3 để sản xuất 3 lô liên tiếp với công suất tối đa nhằm đánh giá tính ổn định của quy trình sản xuất ở công suất thực tế và thực hiện đầy đủ các thử nghiệm kiểm tra chất lượng theo tiêu chuẩn cơ sở [2, 6].

5. KẾT LUẬN

Đã thiết lập được 2 công thức pha vắc xin phối hợp MRVAC đơn liều, kết quả thực hiện 3 lần ở 2 công thức đều ổn định và đạt tiêu chuẩn chất lượng về cảm quan bán vắc xin đông khô và sau khi được hồi chỉnh bằng nước vô trùng pha tiêm, hiệu giá virus sởi và rubella ở hai công thức đều đạt ≥ 3 lgPFU/0,5mL, hiệu giá virus sởi dao động từ 4,03 đến 4,28 lgPFU/0,5mL và rubella

từ 3,79 đến 3,98 lgPFU/0,5mL. Độ ổn định nhiệt đều cho kết quả đều đạt ≤ 1 lgPFU/0,5mL, độ giảm hiệu giá khi ủ ở 37°C đối với virus sởi dao động từ 0,79 đến 0,96 lgPFU/0,5mL và đối với virus rubella dao động từ 0 đến 0,18 lgPFU/0,5mL. Độ ẩm tồn dư đạt yêu cầu $\leq 2\%$ ở cả 3 lần nghiên cứu và đối với mẫu của cả 2 công thức, dao động từ 0,35 đến 0,72%. pH vắc xin ổn định, đạt yêu cầu trong khoảng 6,8 đến 8,5, dao động từ 7,42 đến 7,62.

Đã thiết lập được quy trình đông khô vắc xin đóng ống đơn liều với tổng thời gian đông khô là 80 giờ 18'.

Đề xuất sử dụng công thức pha 1 và chương trình đông khô đã thiết lập để tiến hành thẩm định sản xuất 3 lô liên tiếp với công suất tối đa nhằm đánh giá tính ổn định quy trình và chất lượng sản phẩm và xin cấp phép sản phẩm đưa ra thị trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Huyen DTT, Hong DT, Some clinical and epidemiological characteristics of measles in Vietnam, 2013-2014, Vietnam Journal of Preventive Medicine, 2016; 26(4): 98-106.
- [2] Vietnamese Pharmacopoeia, 5th Edition, Vietnam Medical Publishing House, 2018.
- [3] Ministry of Health, Regulations on registration of drugs and medicinal ingredients. Circular: 32/2018/TT-BYT, 2018.
- [4] Huong NT, Thu PA, Huong NTT, Huong VT et al., Thermo - Stability of measles-rubella combined vaccine produced at Polyvac, Vietnam Journal of Preventive Medicine, 2018; 28(4): 52-57. (in Vietnamese)
- [5] Kieu NT, Thermo - Stability of measles vaccine produced in Vietnam. Doctoral thesis, Hanoi Medical University, 2014. (in Vietnamese)
- [6] World Health Organization, Requirements for measles, mumps and rubella vaccines and combined vaccine. WHO Technical Report Series, No. 840, Annex 3, 1994.
- [7] World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 993, Annex 4, 2015.
- [8] Andrea G, Freeze-drying process principle and practice, 2010.
- [9] Xu B, Wang T, Zhou Y et al., Optimization of procedure for lyophilization of live attenuated measles vaccine, Chinese Journal of Biologicals, 2010; 23(12): 1343-1346.
- [10] <http://www.freeze-dry.com/2015/09/29/history-of-freeze-drying/> accessed on 14th Feb 2021.