

Đánh giá chất lượng sinh phẩm huyết thanh đông khô chứa kháng thể kháng sán lá gan lớn ứng dụng kiểm soát chất lượng xét nghiệm

Lê Văn Chương¹, Nguyễn Thị Tú Anh¹, Lê Thị Kiều Vân¹, Phạm Nguyễn Tùng¹,

Nguyễn Hà Cẩm Tú¹, Trần Nhật Nguyên^{1*}

(1) Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá tính đồng nhất, độ ổn định ngắn hạn, độ ổn định dài hạn và độ ổn định sau hoàn nguyên của sinh phẩm huyết thanh đông khô chứa kháng thể kháng sán lá gan lớn. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu thực nghiệm trên mẫu huyết thanh đông khô chứa kháng thể kháng sán lá gan lớn. Đánh giá tính đồng nhất và độ ổn định của bộ mẫu sau khi đông khô bằng sinh phẩm “Human Fasciola IgG ELISA Test Kit” của hãng Cortez Diagnostics, Inc. theo tiêu chuẩn ISO 13528:2022, số liệu được xử lý thống kê bằng kiểm định oneway ANOVA và t-test. **Kết quả:** Theo phép kiểm oneway ANOVA, bộ mẫu huyết thanh đông khô chứa kháng thể kháng sán lá gan lớn đạt tính đồng nhất với giá trị $p = 0,739$. Theo phép kiểm t-test, bộ mẫu đạt độ ổn định ngắn hạn tại các thời điểm đánh giá là 1, 3, 5, 7 ngày với giá trị p lần lượt 0,058; 0,180; 0,278; 0,129 và đạt độ ổn định dài hạn tại thời điểm 2 và 4 tháng với giá trị p lần lượt là 0,328 và 0,444. Bộ mẫu sau hoàn nguyên đạt ổn định đến 7 ngày ở cả 3 mức nhiệt độ là -20°C , $2 - 8^{\circ}\text{C}$ và $20 - 24^{\circ}\text{C}$. **Kết luận:** Sinh phẩm huyết thanh đông khô chứa kháng thể kháng sán lá gan lớn đạt chất lượng để ứng dụng vào chương trình ngoại kiểm Huyết thanh học Ký sinh trùng.

Từ khóa: *Fasciola gigantica*, *Fasciola hepatica*, ngoại kiểm, độ ổn định, tính đồng nhất.

Evaluation of the quality of lyophilized serum containing anti-fasciola antibodies applied to quality control

Le Van Chuong¹, Le Thi Kieu Van¹, Pham Nguyen Tung¹,

Nguyen Thi Tu Anh¹, Nguyen Ha Cam Tu¹, Tran Nhat Nguyen^{1*}

(1) University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city

Abstract

Objective: Evaluate the homogeneity, short-term stability, long-term stability, and stability after reconstitution of a lyophilized serum samples containing anti-Fasciola antibodies. **Method:** Experimental study on lyophilized serum samples containing anti-Fasciola antibodies. Homogeneity and stability of the lyophilized samples were assessed using the “Human Fasciola IgG ELISA Test Kit” from Cortez Diagnostics, Inc., according to the ISO 13528:2022 standard. The data were statistically analyzed using one-way ANOVA and t-test. **Results:** According to one-way ANOVA, the lyophilized serum samples containing anti-Fasciola antibodies demonstrated homogeneity with a p-value of 0.739. The t-test results indicated that the samples achieved short-term stability at evaluation times of 1, 3, 5, and 7 days with p-values of 0.058; 0.180; 0.278 and 0.129. Long-term stability was confirmed at 2 and 4 months with p-values of 0.328 and 0.444. After reconstitution, the samples remained stable for up to 7 days at all three temperatures: -20°C , $2 - 8^{\circ}\text{C}$, and $20 - 24^{\circ}\text{C}$. **Conclusion:** The lyophilized serum product containing anti-Fasciola antibodies meets quality standards for use in external quality assessment programs.

Keywords: *Fasciola gigantica*, *Fasciola hepatica*, External Quality Assessment, stability, homogeneity.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh sán lá gan lớn ở người do hai loài *Fasciola gigantica* và *Fasciola hepatica* gây ra, đây được xem là một trong những vấn đề sức khỏe cộng đồng đang nổi lên với số người mắc bệnh lên tới khoảng 2,4 triệu người, tỉ lệ lưu hành cao nhất được ghi nhận

ở Đông Á và Nam Mỹ [1]. Cùng với sự gia tăng toàn cầu về khối lượng nuôi trồng thủy sản, khả năng các sản phẩm nuôi trồng thủy sản bị nhiễm tác nhân sinh học cũng tăng lên, đồng nghĩa với môi trường sống của các loài thực vật thủy sinh cũng được mở rộng, trong đó tỉ lệ nhiễm sán lá ở người và cá nuôi

Tác giả liên hệ: Trần Nhật Nguyên; Email: trannhatnguyen@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 17/9/2024; Ngày đồng ý đăng: 14/12/2024; Ngày xuất bản: 25/12/2024

DOI: 10.34071/jmp.2024.7.18

ở châu Á rất cao, dao động từ 50 - 70% cho thấy tầm ảnh hưởng của bệnh sán lá gan lớn ở người lên các lĩnh vực đời sống [2]. Vậy nên, để xác định chính xác người đến thăm khám với các triệu chứng nghi ngờ có nhiễm sán lá gan lớn hay không rất cần sự hỗ trợ và phối hợp chặt chẽ từ phía cận lâm sàng, một xét nghiệm được sử dụng phổ biến hiện nay để chẩn đoán người nhiễm sán lá gan lớn là khảo sát hiển vi tìm sự xuất hiện của trứng trong phân, đây là xét nghiệm dễ thực hiện tuy nhiên độ nhạy của kỹ thuật này không cao dẫn đến dễ bỏ sót ca bệnh, việc xét nghiệm huyết thanh học tìm kháng thể kháng sán lá gan lớn với độ nhạy và độ đặc hiệu cao giữ vai trò quan trọng trong việc phát hiện và chẩn đoán người mắc bệnh.

Nhằm đảm bảo kết quả xét nghiệm là đáng tin cậy thì việc thực hiện nội kiểm và ngoại kiểm là bắt buộc và các phòng xét nghiệm phải tuân thủ theo Thông tư số 01/2013/TT-BYT của Bộ Y tế ban hành ngày 11/01/2013 về “Hướng dẫn thực hiện quản lý chất lượng xét nghiệm tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh”, Quyết định số 2429/QĐ-BYT của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành ngày 12/06/2017 về việc “Ban hành tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học” và Quyết định số 316/QĐ-TTg của Thủ tướng Chính phủ ban hành ngày 27/02/2016 về việc “Phê duyệt đề án tăng cường năng lực hệ thống quản lý chất lượng xét nghiệm y học giai đoạn 2016 - 2025” [3], [4], [5].

Tuy nhiên, trên thực tế, việc triển khai chương trình ngoại kiểm tại Việt Nam còn khá thụ động và gặp nhiều bất lợi do phải nhập khẩu mẫu ngoại kiểm từ nước ngoài với chi phí cao và nguồn mẫu không ổn định. Bên cạnh đó, xét nghiệm huyết thanh học sán lá gan lớn ở Việt Nam được thực hiện tại các cơ sở khám chữa bệnh với các bộ kit khác nhau, độ nhạy, độ đặc hiệu và giá trị ngưỡng cũng khác nhau. Do đó, nghiên cứu sử dụng huyết thanh người để sản xuất mẫu ngoại kiểm cung cấp cho các phòng xét nghiệm trong nước sẽ là phương án tối ưu để tiết kiệm chi phí cũng như chủ động hơn về nguồn mẫu cung cấp cho các đơn vị và kiểm soát chất lượng các đơn vị trong nước hiệu quả hơn. Điều này không chỉ giúp cho các đơn vị trong nước có thể tham gia chương trình ngoại kiểm với mức giá hợp lý và nâng cao chất lượng xét nghiệm mà còn mang đến kết quả đáng tin cậy góp phần hỗ trợ đưa ra chẩn đoán chính xác cho bệnh nhân. Với những lý do trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu: “Đánh giá chất lượng sinh phẩm huyết thanh đông khô chứa kháng thể kháng sán lá gan lớn ứng dụng kiểm soát chất lượng xét

nghiệm” với mục tiêu là đánh giá tính đồng nhất, độ ổn định ngắn hạn, độ ổn định dài hạn và độ ổn định sau hoàn nguyên của sinh phẩm huyết thanh đông khô chứa kháng thể kháng sán lá gan lớn.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu thực nghiệm trên đối tượng là mẫu huyết thanh đông khô chứa kháng thể kháng sán lá gan lớn, thực hiện tại Trung tâm Kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm y học - Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh. Những mẫu huyết thanh ở bệnh nhân được chẩn đoán bệnh sán lá gan lớn, có kết quả ELISA dương tính với sán lá gan lớn, không bị tán huyết hay bị đục sẽ được thu thập và bảo quản ở -20°C. Mẫu huyết thanh cho phản ứng dương tính với các xét nghiệm sàng lọc HIV 1/2, HCVAb, HbsAg và các xét nghiệm phát hiện kháng thể kháng *Toxocara*, *Strongyloides* sẽ được loại ra khỏi nghiên cứu. Trong quá trình nghiên cứu đảm bảo tuân theo các quy định về an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm. Thực hiện xét nghiệm trên sinh phẩm “Human Fasciola IgG ELISA Test Kit” của hãng Cortez Diagnostics, Inc. với độ nhạy và độ đặc hiệu là 100%, đo OD bằng máy đọc “ELISA Model AC:3000” của hãng Azure Biosystem - Mỹ.

Nghiên cứu được thực hiện qua các bước sau theo qui trình thực hiện tại Trung tâm Kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm y học - Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh:

- Bước 1: Thu thập nguyên liệu. Thu thập mẫu huyết thanh chứa kháng thể kháng sán lá gan lớn theo tiêu chuẩn chọn vào và tiêu chuẩn loại ra. Mẫu được bảo quản -20°C tại Trung tâm Kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm y học - Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh.

- Bước 2: Tạo bộ mẫu. Mẫu huyết thanh thu thập được đã đông tự nhiên ở nhiệt độ phòng sau đó tạo bộ mẫu bằng cách hòa trộn các mẫu với nhau. Đánh giá nồng độ kháng thể kháng sán lá gan lớn trên sản phẩm Human Fasciola IgG ELISA Test Kit, các kit được sử dụng có cùng Lot với nhau, đo OD bằng máy đọc “ELISA Model AC:3000”.

- Bước 3: Đông lạnh mẫu. Các lô mẫu được trộn đều, sau đó phân phối 500 µL vào mỗi lọ đông khô thủy tinh, dán nhãn. Lọ mẫu được đông lạnh ở nhiệt độ -20°C.

- Bước 4: Tiến hành đông khô. Mẫu đông lạnh sẽ được chuyển vào máy đông khô Freezone Console model FreeZone 6 Liter (Labconco - Mỹ), cài đặt chương trình đông khô gồm 4 giai đoạn: tiền xử lý, cấp đông, sấy sơ cấp và sấy thứ cấp.

Bảng 1. Các giai đoạn của quá trình đông khô

Bước	Tỷ lệ gia tăng (°C/phút)	Nhiệt độ khay đông (°C)	Thời gian (hh:mm)	Áp suất chân không (mbar)
1	1:50	-40	2:00	1,000
2	1:00	-40	1:00	0,100
3	0:05	10	19:00	0,034
4	1:00	25	2:00	0,034

Tiêu chuẩn chất lượng: về mặt cảm quan, mẫu tạo thành khối tròn đều, không ẩm, toàn vẹn cấu trúc, hình dạng tương đồng khi ở trạng thái cấp đông, dung dịch sau hoàn nguyên không có sợi tơ huyết, không vẩn đục.

Đóng nắp và bảo quản: tiến hành đóng nắp các lọ mẫu đã đông khô và bảo quản ở các nhiệt độ tương ứng.

- Bước 5: Đánh giá chất lượng bộ mẫu theo hướng dẫn của tiêu chuẩn ISO 13528:2022 về “*Phương pháp thống kê dùng trong thử nghiệm thành thạo bằng so sánh liên phòng thí nghiệm*” [7]. Xác định nồng độ kháng thể kháng sán lá gan lớn trên sản phẩm Human Fasciola IgG ELISA Test Kit, đo OD bằng máy đọc “ELISA Model AC:3000”:

+ Đánh giá tính đồng nhất của bộ mẫu: chọn ngẫu nhiên 10 mẫu trong lô mẫu, mỗi mẫu được đo lặp lại 2 lần, sử dụng phép kiểm one-way ANOVA để đánh giá tính đồng nhất giữa các mẫu (a)

+ Đánh giá độ ổn định bao gồm:

- Độ ổn định ngắn hạn (độ ổn định trong điều kiện vận chuyển giá định): lấy ngẫu nhiên 3 mẫu tại mỗi thời điểm đánh giá (1 ngày, 3 ngày, 5 ngày, 7 ngày). Số mẫu cần sử dụng là 12 mẫu (b)

- Độ ổn định dài hạn (độ ổn định trong điều kiện bảo quản -20°C): lấy ngẫu nhiên 3 mẫu tại mỗi thời điểm đánh giá (2 tháng, 4 tháng). Số mẫu cần là 6 mẫu (c)

- Độ ổn định sau hoàn nguyên: mẫu sau khi hoàn nguyên được bảo quản ở 3 mức nhiệt độ (20 - 24°C, 2-8°C, -20°C), đánh giá tại 4 mốc thời gian (1 ngày, 3 ngày, 5 ngày, 7 ngày), mỗi thời điểm chọn 3 mẫu để đánh giá. Số mẫu cần là: $3 \times 3 \times 4 = 36$ mẫu (d).

Như vậy cỡ mẫu cần cho đánh giá là: [(a) + (b) + (c) + (d) $\times$ 105% $\approx$ 67 mẫu (lựa chọn xác suất thất lạc, hư hỏng do vận chuyển, gửi mẫu lại là 5%). Đo OD cho từng mẫu, đo lặp lại 2 lần/mẫu.

- Bước 6: Phân tích số liệu và tổng hợp kết quả. Số liệu được ghi nhận và quản lý bằng phần mềm

Microsoft Excel 2016. Sử dụng phép kiểm one-way ANOVA và t-test trên phần mềm thống kê STATA 14.2 để kiểm tra sự khác biệt có ý nghĩa của các giá trị khảo sát.

Theo tiêu chuẩn ISO 13528:2022 [7], việc đánh giá tính đồng nhất được thực hiện bằng cách lựa chọn 10 lọ mẫu ngẫu nhiên, đánh số từ 1 - 10. Mỗi lọ mẫu dung dịch sau khi hoàn nguyên được phân tích lặp lại 2 lần. Từ kết quả thu được, chúng tôi sử dụng phương pháp phân tích phương sai một chiều (one-way ANOVA) với khoảng tin cậy 95% để so sánh trung bình kết quả của 10 mẫu với nhau. Kết luận mẫu đạt đồng nhất khi giá trị $p > 0,05$.

Để đánh giá độ ổn định, tại mỗi thời điểm đánh giá sẽ chọn ngẫu nhiên 3 lọ mẫu. Mỗi lọ mẫu dung dịch sau khi hoàn nguyên được phân tích lặp lại 2 lần và tính giá trị trung bình từ 2 lần chạy. Kết quả thu thập được từ 3 mẫu tại mỗi thời điểm đánh giá sẽ được so sánh với kết quả của 10 mẫu dùng để đánh giá tính đồng nhất (ngày 0 hay giá trị ban đầu của bộ mẫu). Sử dụng kiểm định Independent-Samples t-test để đánh giá độ ổn định của mẫu. Nếu giá trị $p < 0,05$ thì sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, kết luận mẫu không ổn định. Ngược lại, giá trị $p > 0,05$ sự khác biệt không có ý nghĩa, kết luận mẫu đạt độ ổn định.

Đạo đức nghiên cứu: đề cương nghiên cứu được sự thông qua của Hội đồng xét duyệt đề cương và sự chấp thuận của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học – Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh số 485/HĐĐĐ-ĐHYD, ngày 15 tháng 3 năm 2024.

3. KẾT QUẢ

Thực hiện đánh giá và thu thập số liệu trên các mẫu huyết thanh đông khô được sản xuất theo quy trình thiết kế như trên, số liệu được phân tích theo tiêu chuẩn ISO 13528:2022 về “*Phương pháp thống kê dùng trong thử nghiệm thành thạo bằng so sánh liên phòng thí nghiệm*”, thu được kết quả được thể hiện như sau:

Bảng 2. Bảng kết quả đánh giá tính đồng nhất của bộ mẫu

Mẫu	Kết quả ELISA (OD)		
	Lần 1	Lần 2	TBM
Mẫu 1	1,095	1,133	1,114
Mẫu 2	1,165	1,141	1,153
Mẫu 3	1,121	1,117	1,119
Mẫu 4	1,118	1,112	1,115
Mẫu 5	1,122	1,114	1,118
Mẫu 6	1,151	1,122	1,137
Mẫu 7	1,094	1,152	1,123
Mẫu 8	1,133	1,119	1,126
Mẫu 9	1,114	1,163	1,139
Mẫu 10	1,146	1,119	1,133
Trung bình	1,126	1,129	1,127
p-value		0,739	
Kết luận		Đạt	

* Chú thích: OD: optical density; TBM: trung bình từ 2 lần chạy của mỗi mẫu

Thực hiện đánh giá tính đồng nhất bằng kiểm định oneway ANOVA cho kết quả $p=0,739$, như vậy sự khác biệt giữa các mẫu trong bộ mẫu được sản xuất không có ý nghĩa thống kê, bộ mẫu có nồng độ kháng thể kháng sán lá gan lớn đạt tính đồng nhất.

Bảng 3. Bảng kết quả đánh giá độ ổn định ngắn hạn của bộ mẫu

Thời gian	TBM1	TBM2	TBM3	p-value	Kết luận
CO*			1,127		
1 ngày	1,170	1,128	1,145	0,058	Đạt
3 ngày	1,104	1,096	1,140	0,180	Đạt
5 ngày	1,144	1,130	1,135	0,278	Đạt
7 ngày	1,168	1,147	1,118	0,129	Đạt

* Chú thích: CO*: kết quả trung bình của các mẫu tại thời điểm ban đầu dùng để so sánh; TBM1, TBM2, TBM3: lần lượt là trung bình kết quả 2 lần chạy của mẫu 1, 2, 3

Kết quả đánh giá độ ổn định ngắn hạn ở thời gian 1 ngày, 3 ngày, 5 ngày, 7 ngày bằng phép kiểm t-test đều cho $p>0,05$, vì vậy sự khác biệt giữa thời điểm đánh giá so với thời điểm ban đầu là không có ý nghĩa thống kê, bộ mẫu đảm bảo được độ ổn định ngắn hạn đến 7 ngày.

Bảng 4. Bảng kết quả đánh giá độ ổn định dài hạn của bộ mẫu

Thời gian	TBM1	TBM2	TBM3	p-value	Kết luận
CO*			1,127		
2 tháng	1,010	1,148	1,152	0,328	Đạt
4 tháng	1,195	1,151	0,946	0,444	Đạt

* Chú thích: CO*: kết quả trung bình của các mẫu tại thời điểm ban đầu dùng để so sánh; TBM1, TBM2, TBM3: lần lượt là trung bình kết quả 2 lần chạy của mẫu 1, 2, 3

Kết quả đánh giá độ ổn định dài hạn ở thời điểm 2 tháng và 4 tháng bằng phép kiểm t-test đều cho $p>0,05$, cho thấy sự khác biệt giữa thời điểm đánh giá so với thời điểm ban đầu là không có ý nghĩa thống kê, vì vậy bộ mẫu đảm bảo được độ ổn định trong các thời điểm đánh giá.

Bảng 5. Bảng kết quả đánh giá độ ổn định sau hoàn nguyên của bộ mẫu

Nhiệt độ	Thời gian	TBM1	TBM2	TBM3	p-value	KL
	CO*			1,127		
20-24°C	1 ngày	1,114	1,113	1,121	0,153	Đạt
	3 ngày	1,145	1,103	1,103	0,318	Đạt
	5 ngày	1,106	1,133	1,105	0,165	Đạt
	7 ngày	1,162	1,142	1,046	0,577	Đạt
2-8°C	1 ngày	1,131	1,131	1,132	0,621	Đạt
	3 ngày	1,125	1,120	1,108	0,233	Đạt
	5 ngày	1,128	1,153	1,142	0,130	Đạt
	7 ngày	1,106	1,121	1,112	0,086	Đạt
-20°C	1 ngày	1,113	1,048	1,147	0,147	Đạt
	3 ngày	1,139	1,156	1,127	0,150	Đạt
	5 ngày	1,009	1,143	1,173	0,469	Đạt
	7 ngày	1,105	1,117	1,238	0,265	Đạt

* Chú thích: CO*: kết quả trung bình của các mẫu tại thời điểm ban đầu dùng để so sánh; TBM1, TBM2, TBM3: lần lượt là trung bình kết quả 2 lần chạy của mẫu 1, 2, 3; KL: kết luận

Kết quả độ ổn định sau hoàn nguyên tại 4 thời điểm: 1 ngày, 3 ngày, 5 ngày, 7 ngày ở 3 mức nhiệt độ là -20°C, 2 - 8°C và 20 - 24°C bằng kiểm định t-test đều cho kết quả $p > 0,05$, như vậy thời gian bộ mẫu giữ được độ ổn định sau khi hoàn nguyên lên tới 7 ngày.

4. BÀN LUẬN

Đánh giá tính đồng nhất nhằm đảm bảo tất cả đơn vị tham gia nhận được các mẫu ngoại kiểm có giá trị tương đương nhau. Với mục tiêu hạn chế tối đa sự khác biệt giá trị giữa các mẫu, dung dịch huyết tương được trộn đều trong suốt quá trình phân phối bằng máy khuấy từ, quá trình phân phối được thực hiện đồng bộ từ nhân sự đến thiết bị. Theo tiêu chuẩn ISO 13528:2022 [7], việc đánh giá tính đồng nhất của các mẫu thử nghiệm được thực hiện thông qua việc lấy ngẫu nhiên ít nhất 10 mẫu từ lô mẫu và tiến hành kiểm tra lặp lại 2 lần trên mỗi mẫu. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi so sánh trung bình 2 lần đo của 10 mẫu với nhau thì giá trị của 10 mẫu này có khác biệt nhưng sự khác biệt này không có nghĩa thống kê (ANOVA, $p\text{-value} > 0,05$), từ đó khẳng định các bước điều chế và phân phối mẫu không làm sai lệch đến giá trị của các mẫu trong bộ mẫu, đảm bảo tính đồng nhất của các mẫu sau quá trình đông khô. Kết luận này tương đồng với các nghiên cứu trước đây, điển hình là nghiên cứu của tác giả Vũ Quang Huy và cộng sự [8] về “Phát triển và đánh giá các mẫu thử nghiệm cho chẩn đoán huyết thanh đặc hiệu của *Fasciola gigantica* thông qua ngoại kiểm”. Cụ thể, nghiên cứu của tác giả này cũng chỉ ra rằng các mẫu ngoại kiểm huyết thanh đông khô có kháng thể kháng kháng nguyên sán lá gan lớn có tính đồng

nhất cao thông qua các số liệu được xử lý bằng kiểm định One way ANOVA.

Đối với tiêu chuẩn của mẫu ngoại kiểm, ngoài yêu cầu các mẫu trong cùng một lô phải đạt tính đồng nhất thì độ ổn định thông số ngoại kiểm theo thời gian và nhiệt độ bảo quản cũng phải được đảm bảo. Với mục tiêu xác định được nhiệt độ và thời gian bảo quản mẫu mà tại đó giá trị của mẫu không bị ảnh hưởng đáng kể thì việc đánh giá này được xem như là cơ sở để đưa ra hạn sử dụng của mẫu ở các điều kiện khác nhau để khuyến cáo cho đơn vị tham gia. Khi xét đến độ ổn định, nghiên cứu của chúng tôi đã tiến hành đánh giá độ ổn định ngắn hạn và dài hạn của mẫu. Đối với độ ổn định ngắn hạn, các mẫu huyết thanh được kiểm tra ở các khoảng thời gian 1 ngày, 3 ngày, 5 ngày và 7 ngày, kết quả cho thấy không có sự thay đổi đáng kể về giá trị của mẫu so với thời điểm ban đầu (t-test, $p\text{-value} > 0,05$). Đối với độ ổn định dài hạn, các mẫu huyết thanh vẫn giữ được tính ổn định trong suốt 4 tháng bảo quản ở nhiệt độ 2 - 8°C (t-test, $p\text{-value} > 0,05$). So sánh với kết quả nghiên cứu tương tự khác trên thế giới về sự ổn định của kháng thể IgG kháng kháng nguyên *Toxoplasma gondii* trong mẫu huyết thanh bảo quản ở nhiệt độ -20°C, cho thấy nồng độ kháng thể IgG ổn định trong thời gian 6 năm, không có sự thay đổi nồng độ kháng thể sau 6 năm lưu trữ giữa giá trị tiền phân

tích theo nghiên cứu của Dard và cộng sự [9]. Mặc dù hai nghiên cứu trên hai bộ mẫu khác nhau nhưng vẫn có được những đánh giá tương đồng về ổn định kháng thể IgG trong mẫu huyết thanh. Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên mẫu huyết thanh chứa kháng thể kháng sán lá gan lớn, với nhiệt độ bảo quản tương tự là 2 - 8°C thì độ ổn định của mẫu lên đến 4 tháng, nằm trong thời gian mẫu giữ được độ ổn định theo nghiên cứu của Dard và cộng sự. Ngoài ra, chúng tôi cũng tiến hành đánh giá độ ổn định sau hoàn nguyên của mẫu huyết thanh ở các nhiệt độ khác nhau (20 - 24°C, 2 - 8°C và -20°C). Kết quả cho thấy mẫu ổn định trong khoảng thời gian đến 7 ngày (t-test, p-value > 0,05) ở tất cả các nhiệt độ trên, điều này chứng minh khả năng duy trì chất lượng của mẫu sau khi hoàn nguyên và trước khi sử dụng trong các xét nghiệm. Như vậy, theo nghiên cứu của chúng tôi mẫu vẫn giữ ổn định tại mỗi thời điểm đánh giá, điều đó chứng minh chất lượng của mẫu không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố thời gian và nhiệt độ bảo quản như trong điều kiện của nghiên cứu.

Việc đánh giá tính đồng nhất và độ ổn định của các mẫu sinh phẩm là cực kỳ quan trọng đối với chất

lượng và tính chính xác của các chương trình ngoại kiểm. Điều này đảm bảo rằng tất cả các đơn vị tham gia nhận được những mẫu ngoại kiểm giống nhau, với sự khác biệt hoặc sai số nằm trong giới hạn chấp nhận, từ đó giúp đánh giá một cách khách quan và chính xác chất lượng hoạt động xét nghiệm của các phòng xét nghiệm. Bằng cách này, kết quả từ các phòng xét nghiệm được so sánh trên cơ sở thống nhất, giúp cải thiện chất lượng chung của hệ thống xét nghiệm trong chẩn đoán bệnh lý.

5. KẾT LUẬN

Bộ mẫu sinh phẩm huyết thanh đông khô chứa kháng thể kháng sán lá gan lớn đạt tính đồng nhất và đạt độ ổn định lên đến 4 tháng kể từ ngày sản xuất. Bộ mẫu sau khi đã hoàn nguyên đạt độ ổn định trong 7 ngày ở nhiệt độ -20°C, 2 - 8°C và 20 - 24°C.

6. LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh đã cấp kinh phí thực hiện nghiên cứu này theo hợp đồng số 217/2023/HĐ-ĐHYD ngày 22 tháng 09 năm 2023.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mas-Coma S, Valero MA, Bargues MD. Fascioliasis. Adv Exp Med Biol. 2019; 1154:71-103. doi:10.1007/978-3-030-18616-6_4
2. Jesper H. Clausen, Henry Madsen, Phan Thi Van, Anders Dalsgaard, Murrell KD. Integrated parasite management: path to sustainable control of fishborne trematodes in aquaculture. Trends in Parasitology. 2015;31(1):8-15. doi:10.1016/j.pt.2014.10.005.
3. Thông tư số 01/2013/TT-BYT của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành ngày 11/01/2013 về Hướng dẫn thực hiện quản lý chất lượng xét nghiệm tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.
4. Quyết định số 316/QĐ-TTg của Thủ tướng Chính phủ ban hành ngày 27/02/2016 về việc Phê duyệt Đề án tăng cường năng lực hệ thống quản lý chất lượng xét nghiệm y học giai đoạn 2016 – 2025.
5. Quyết định số 2429/QĐ-BYT của Bộ trưởng Bộ Y tế

ban hành ngày 12/06/2017 về việc Ban hành tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học.

6. Quyết định số 1203/QĐ-BYT của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành ngày 16/05/2022 về việc ban hành Hướng dẫn chẩn đoán, điều trị và phòng bệnh sán lá gan lớn.

7. The International Organization for Standardization. ISO 13528:2022, Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison; 2022.

8. Huy, V. Q., Trung, T. T., Chuong, L. V., Vu, N. L. D., & HTD, P. Development and Testing of Trial Samples for Specific Serodiagnosis of Fasciola gigantica via External Quality Assessment. J Bacteriol Parasitol. 2019; 10(351), 2.

9. Dard C., Bailly S., Drouet T., et al. Long-term sera storage does not significantly modify the interpretation of toxoplasmosis serologies. J Microbiol Methods. 2017; 134, pp. 38-45.