

# SẢN XUẤT MẪU NGOẠI KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM ĐẾM TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI

Nguyễn Hữu Hùng<sup>1,✉</sup>, Đặng Thị Ngọc Dung<sup>1</sup>, Nguyễn Ngọc Dũng<sup>2</sup>  
Đỗ Thị Hương<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Hào<sup>1</sup>, Lê Thanh Thảo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Hà Nội

<sup>2</sup>Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương

Mẫu ngoại kiểm đóng vai trò quan trọng trong ngoại kiểm tra chất lượng xét nghiệm. Nghiên cứu nhằm sản xuất mẫu ngoại kiểm cho xét nghiệm đếm tế bào máu ngoại vi. Ba lô mẫu (24 mẫu/lô, V = 2mL) với mức số lượng tế bào khác nhau đã được sản xuất dưới dạng máu toàn phần mô phỏng, chứa các thành phần: tế bào hồng cầu người cố định bởi Glutaraldehyde 0,015%, tế bào hồng cầu gà cố định bởi Glutaraldehyde 0,18% (để mô phỏng bạch cầu người), tế bào tiểu cầu người cố định bởi Glutaraldehyde 0,007% và huyết thanh người bổ sung kháng sinh. Mẫu sản phẩm được đánh giá chất lượng theo tiêu chuẩn ISO 13528:2015 trên hai tiêu chí: độ đồng nhất và độ ổn định. Kết quả thu được cho thấy sản phẩm đạt độ đồng nhất trên 11 thông số: RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW%, WBC, PLT, MPV, PCT. Trong điều kiện vận chuyển (khoảng cách vận chuyển > 600km, thời gian vận chuyển < 72h), sản phẩm đạt độ ổn định trên 10 thông số: RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, WBC, PLT, MPV, PCT. Trong điều kiện bảo quản 2 - 8°C sản phẩm đạt độ ổn định đến 4 tuần trên 6 thông số: RBC, WBC, PLT và HGB, MCH, PCT.

**Từ khóa:** Glutaraldehyde, ngoại kiểm, xét nghiệm đếm tế bào.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xét nghiệm đếm tế bào máu ngoại vi đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán và điều trị bệnh trên lâm sàng.<sup>1</sup> Kiểm soát chất lượng xét nghiệm góp phần nâng cao mức độ chính xác của xét nghiệm và niềm tin của bác sĩ lâm sàng cũng như người bệnh. Ngoại kiểm là một yêu cầu đối với phòng xét nghiệm nhằm kiểm soát chất lượng xét nghiệm.<sup>2</sup> Đề án 316/QĐ-TTg của Thủ tướng về tăng cường năng lực hệ thống quản lý chất lượng xét nghiệm y học giai đoạn 2016 - 2025 đề ra nhiệm vụ Việt Nam có thể tự nghiên cứu sản xuất các mẫu ngoại kiểm.<sup>3</sup> Mẫu ngoại kiểm cho xét nghiệm đếm tế bào máu ngoại vi tồn tại ở dạng máu toàn

phần nhằm mục đích mô phỏng mẫu bệnh nhân. Theo WHO (2016) mẫu ngoại kiểm cần có sự ổn định tối thiểu 01 tháng.<sup>4</sup> Trong khi đó, theo E.Cornet và cộng sự (2012), máu toàn phần sau khi lấy và bảo quản ở 2 - 8°C có độ ổn định của tất cả thông số cơ bản không quá 72 giờ.<sup>5</sup> Để sản xuất được mẫu ngoại kiểm có độ ổn định cao hơn cần phải sử dụng các kỹ thuật xử lý tế bào máu giúp kéo dài độ ổn định của mẫu. Các nghiên cứu về sản xuất mẫu nâng cao độ ổn định đã được báo cáo từ rất sớm. Vào năm 1966, Mortensen cùng cộng sự sản xuất một dịch treo hồng cầu bằng việc xử lý tế bào hồng cầu người với các dung dịch đệm, sau đó thêm vào đó một lượng formalin bão hòa làm chất ổn định, dịch treo này được sử dụng làm vật liệu kiểm soát đếm hồng cầu, độ ổn định 14 tháng.<sup>6</sup> Giai đoạn 1998 - 2017 có nhiều nghiên cứu khác thực hiện cố định tế bào bằng aldehyde để sản xuất mẫu có

Tác giả liên hệ: Nguyễn Hữu Hùng

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: nguyenuuhung@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 12/07/2024

Ngày được chấp nhận: 15/10/2024

độ ổn định cao, các aldehyde được sử dụng là glutaraldehyde và formaldehyde.<sup>7-10</sup> Năm 1998, WHO xuất bản các hướng dẫn sản xuất mẫu ngoại kiểm cho xét nghiệm đếm tế bào máu ngoại vi.<sup>11,12</sup> ISO 13528:2015 đưa ra yêu cầu mẫu ngoại kiểm phải được kiểm tra về độ đồng nhất và độ ổn định.<sup>13</sup> Dựa trên nền tảng kỹ thuật sản xuất đã được gợi mở, sự có sẵn của yêu cầu quốc tế về chất lượng mẫu ngoại kiểm, nghiên cứu này đã được thực hiện với mục tiêu: sản xuất mẫu ngoại kiểm tra chất lượng xét nghiệm đếm tế bào máu ngoại vi và đánh giá độ đồng nhất, độ ổn định của mẫu sản phẩm.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Vật liệu nghiên cứu

- Các chế phẩm khối hồng cầu nhóm O và khối tiểu cầu, khối huyết tương tươi đông lạnh nhóm AB được cung cấp từ Viện Huyết học- Truyền máu Trung ương. Tiêu chuẩn lựa chọn: các chế phẩm đã được xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường dòng hồng cầu, giang mai, các virus HBV, HCV, HIV (bằng kỹ thuật ELISA/CLIA và NAT). Khối hồng cầu sử dụng chống đông CPD-A.<sup>12</sup> Các chế phẩm còn hạn sử dụng.

- Máu gà tươi thu thập từ gà trống khỏe mạnh, nuôi nhốt vì mục đích nghiên cứu tại Viện thú y, gà sau khi lấy máu được chăm sóc và hồi phục. Máu gà được chống đông bằng EDTA. Tiêu chuẩn lựa chọn: máu gà sau ly tâm không xuất hiện tán huyết.<sup>12</sup>

### 2. Phương pháp

#### *Thiết kế nghiên cứu*

Nghiên cứu thử nghiệm trong phòng thí nghiệm.

#### **Cỡ mẫu**

Tổng số 72 mẫu, chia 3 lô mẫu (C1, C2, C3), 24 mẫu/lô. Trong đó bao gồm: 10 mẫu cho

đánh giá độ đồng nhất; 08 mẫu cho đánh giá độ ổn định trong điều kiện bảo quản 4°C (2 mẫu/lần, theo dõi 1 lần/tuần trong 4 tuần); 2 mẫu cho đánh giá độ ổn định trong điều kiện vận chuyển;<sup>13</sup> 4 mẫu làm dự phòng.

#### **Quy trình thực hiện**

*Bước 1:* Chuẩn bị thành phần huyết thanh nền: khối huyết tương tươi đông lạnh nhóm AB được rã đông (37°C, 45 phút), bổ sung Ca<sup>++</sup> để chuyển huyết tương thành huyết thanh, tách lấy huyết thanh, thêm Azide 1 g/L, Penicillin, Gentamycin 0,1 g/L (Sigma) thu được thành phần huyết thanh nền.

*Bước 2:* Chuẩn bị thành phần hồng cầu cố định: khối hồng cầu O rửa 2 lần với PBS (Phosphate-buffered saline, Sigma), treo hồng cầu 40 - 50% trong PBS, cố định hồng cầu bằng Glutaraldehyde 0,015% (Sigma), 24h, rửa 2 lần hồng cầu đã cố định với PBS, treo hồng cầu sau rửa trong huyết thanh nền.

*Bước 3:* Chuẩn bị thành phần bạch cầu mô phỏng từ hồng cầu gà:<sup>12</sup> máu gà tươi đem ly tâm, tách lấy hồng cầu gà, rửa hồng cầu 2 lần với PBS, treo lại 20 - 30% trong PBS, cố định hồng cầu bằng Glutaraldehyde 0,18%, 1h, rửa 2 lần hồng cầu đã cố định với nước cất vô trùng, treo hồng cầu sau rửa trong huyết thanh nền.

*Bước 4:* Chuẩn bị thành phần tiểu cầu cố định: khối tiểu cầu đem ly tâm, tách lấy tiểu cầu, treo lại 10 - 15% trong PBS, lắc nhẹ nhàng dịch treo trong 2h để tiểu cầu nghỉ, cố định tiểu cầu bằng Glutaraldehyde 0,007%, 5 phút, rửa 2 lần tiểu cầu đã cố định với PBS, treo tiểu cầu cố định trong huyết thanh nền.

*Bước 5:* Trộn các thành phần đã chuẩn bị với nhau dưới các tỷ lệ xác định (Bảng 1) để tạo ra 3 lô mẫu mô phỏng máu toàn phần, chia đều vào các ống vô trùng (24 mẫu/lô, V = 2mL), tương ứng với 3 mức số lượng tế bào khác nhau (C1, C2, C3).

Bảng 1. Thành phần các lô mẫu

|       | Huyết thanh nền (mL) | Thành phần hồng cầu (mL) (RBC 8,9 T/L) | Thành phần bạch cầu (mL) (WBC 68 G/L) | Thành phần tiểu cầu (mL) PLT (155 G/L) |
|-------|----------------------|--|---------------------------------------|--|
| Lô C1 | 150                  | 50                                     | 10                                    | 30                                     |
| Lô C2 | 125                  | 75                                     | 15                                    | 50                                     |
| Lô C3 | 110                  | 90                                     | 30                                    | 70                                     |

**Bước 6:** Đánh giá độ đồng nhất của mẫu sản phẩm: tại thời điểm hoàn thành sản xuất (T0), thực hiện xét nghiệm 10 mẫu/lô x 2 lần trên máy huyết học Advia 2120i. 20 kết quả/lô được dùng kiểm tra độ đồng nhất của 11 thông số.<sup>13</sup>

**Bước 7:** Đánh giá độ ổn định trong điều kiện vận chuyển: tại T0, lấy 2 mẫu/lô đóng vào thùng xốp, chống sốc/ thấm, giữ mát bằng đá gel, chuyển gửi cho 2 phòng xét nghiệm ở các khu vực địa lý khác nhau. Ngay khi đến nơi, thùng mẫu được vận chuyển ngược lại về nơi ban đầu. Tổng quãng đường > 600km, tổng thời gian vận chuyển 72h. Ở thời điểm nhận lại, thực hiện xét nghiệm 2 mẫu/lô x 2 lần trên máy huyết học Advia 2120i. 4 kết quả/lô được dùng kiểm tra độ ổn định của 11 thông số.<sup>13</sup>

**Bước 8:** Đánh giá độ ổn định trong điều kiện bảo quản 2 - 8°C: sau sản xuất, các mẫu được bảo quản tủ mát 2 - 8°C. Trong 4 tuần, mỗi tuần thực hiện xét nghiệm 2 mẫu/lô x 2 lần trên máy huyết học Advia 2120i. 4 kết quả/lô được dùng kiểm tra độ ổn định của 11 thông số.<sup>13</sup>

### Xử lý số liệu

Các kết quả được nhập và tính toán trên phần mềm MS Excel 2016.

Đánh giá độ đồng nhất<sup>13</sup>: Từ 20 kết quả tính ra giá trị trung bình  $\bar{X}$  và  $S_s$ -Độ lệch chuẩn

giữa các mẫu (between-sample standard deviation). Xác định giá trị tới hạn  $\sigma_{pt}$  - độ lệch chuẩn của đánh giá thành thạo. Có nhiều cách xác định  $\sigma_{pt}$ , nghiên cứu chọn cách sử dụng tổng sai số đo lường cho phép (maximum permissible measurement error hay allowable total error- TEa), khi đó:  $\sigma_{pt} = X \times TEa$  (%).<sup>13</sup> Tham khảo nguồn dữ liệu ngoại kiểm của CLIA và RANDOX, TEa (%) của các thông số lần lượt lấy các giá trị: HGB (7%), HCT (6%), PLT (25%), RBC (6%), WBC (15%), MCH (8%), MCHC (8%), MCV (8%), RDW (9,8%), MPV (10,2%), PCT (20,4%). Độ đồng nhất đạt nếu  $S_s \leq 0,3\sigma_{pt}$ .

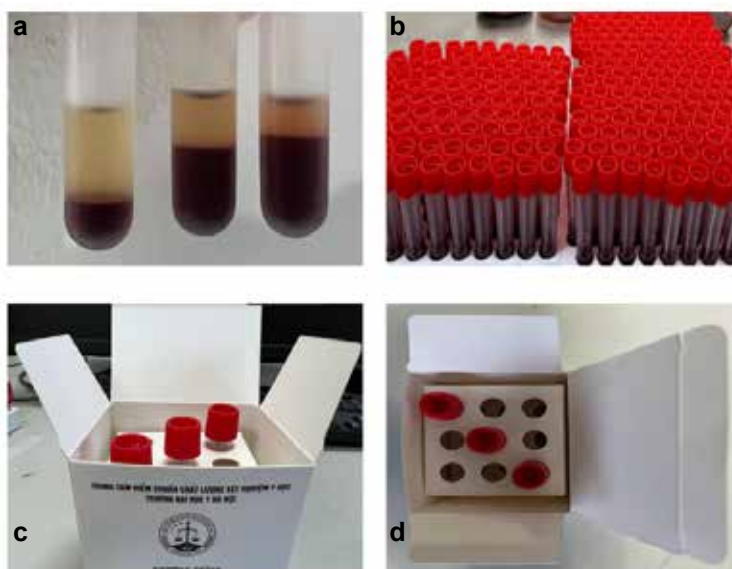
Đánh giá độ ổn định<sup>13</sup>: Đối với mỗi thời điểm đánh giá ổn định, từ 4 kết quả tính ra giá trị trung bình  $Y_i$ . Tính độ lệch  $|Bias| = |Y_i - X|$ . Độ ổn định đạt nếu  $|Bias| \leq 0,3\sigma_{pt}$ . Trường hợp không thỏa mãn điều kiện trên, tiếp tục so sánh với tiêu chuẩn mở rộng được tính kèm độ không đảm bảo đo  $U = SD/\sqrt{n}$ . Khi đó, độ ổn định đạt nếu:  $|Bias| \leq 0,3\sigma_{pt} + 2\sqrt{U_x^2 + U_{Y_i}^2}$ .

### 3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện vì mục đích khoa học, không gây nguy hại cho con người. Các thao tác thử nghiệm được tiến hành trên các chế phẩm máu của người hiến với thông tin cá nhân đã được mã hóa cho mục đích bảo mật.

### III. KẾT QUẢ

#### 1. Sản phẩm 3 lô mẫu ngoại kiểm



Hình 1. Hình ảnh 03 lô mẫu sản phẩm.

*Chú thích: a: 03 lô mẫu để lắng qua đêm (từ trái qua phải: C1, C2, C3);  
b,c,d: 03 lô mẫu được đóng hộp*

Bảng 2. Mức số lượng tế bào của 03 lô mẫu sản phẩm

|       | RBC (T/L) | WBC (G/L) | PLT (G/L) |
|-------|-----------|-----------|-----------|
| Lô C1 | 2,2       | 3,3       | 24        |
| Lô C2 | 3,3       | 5,9       | 38        |
| Lô C3 | 4,0       | 10,0      | 57        |

#### 2. Kết quả đánh giá độ đồng nhất

Bảng 3. Kết quả đánh giá độ đồng nhất

| Thông số   | Lô C1 (n = 20) |                |                               |              | Lô C2 (n = 20) |                |                               |              | Lô C3 (n = 20) |                |                               |              |
|------------|----------------|----------------|-------------------------------|--------------|----------------|----------------|-------------------------------|--------------|----------------|----------------|-------------------------------|--------------|
|            | MEAN ± SD      | S <sub>s</sub> | Tiêu chuẩn 0,3σ <sub>pt</sub> | Độ đồng nhất | MEAN ± SD      | S <sub>s</sub> | Tiêu chuẩn 0,3σ <sub>pt</sub> | Độ đồng nhất | MEAN ± SD      | S <sub>s</sub> | Tiêu chuẩn 0,3σ <sub>pt</sub> | Độ đồng nhất |
| RBC (T/L)  | 2,17 ± 0,02    | 0,003          | 0,039                         | Đạt          | 3,31 ± 0,03    | 0,024          | 0,060                         | Đạt          | 4,01 ± 0,04    | 0,018          | 0,072                         | Đạt          |
| HGB (g/L)  | 65,6 ± 0,82    | 0,707          | 1,378                         | Đạt          | 99,1 ± 0,79    | 0,483          | 2,081                         | Đạt          | 120,45 ± 0,83  | 0,000          | 2,529                         | Đạt          |
| HCT (%)    | 0,19 ± 0,00    | 0,000          | 0,003                         | Đạt          | 0,29 ± 0,00    | 0,002          | 0,005                         | Đạt          | 0,35 ± 0,00    | 0,002          | 0,006                         | Đạt          |
| MCV (pL)   | 85,08 ± 0,11   | 0,000          | 2,042                         | Đạt          | 86,31 ± 0,11   | 0,022          | 2,071                         | Đạt          | 87,31 ± 0,11   | 0,000          | 2,095                         | Đạt          |
| MCH (g/L)  | 30,21 ± 0,48   | 0,422          | 0,725                         | Đạt          | 29,95 ± 0,19   | 0,000          | 0,719                         | Đạt          | 30,03 ± 0,25   | 0,119          | 0,721                         | Đạt          |
| MCHC (g/L) | 355,2 ± 5,71   | 5,187          | 8,525                         | Đạt          | 347,15 ± 2,37  | 0,000          | 8,332                         | Đạt          | 344,1 ± 2,81   | 1,683          | 8,258                         | Đạt          |
| RDW% (%)   | 12,72 ± 0,11   | 0,066          | 0,374                         | Đạt          | 12,68 ± 0,06   | 0,000          | 0,373                         | Đạt          | 12,75 ± 0,06   | 0,027          | 0,375                         | Đạt          |
| WBC (G/L)  | 3,28 ± 0,08    | 0,060          | 0,147                         | Đạt          | 5,87 ± 0,08    | 0,000          | 0,264                         | Đạt          | 9,96 ± 0,15    | 0,020          | 0,448                         | Đạt          |
| PLT (G/L)  | 24,3 ± 1,66    | 0,224          | 1,823                         | Đạt          | 38,4 ± 1,82    | 1,128          | 2,880                         | Đạt          | 57,45 ± 2,28   | 0,000          | 4,309                         | Đạt          |
| MPV (pL)   | 13,42 ± 0,33   | 0,139          | 0,410                         | Đạt          | 12,87 ± 0,26   | 0,113          | 0,394                         | Đạt          | 12,75 ± 0,27   | 0,041          | 0,390                         | Đạt          |
| PCT (%)    | 0,03 ± 0,00    | 0,000          | 0,002                         | Đạt          | 0,05 ± 0,00    | 0,001          | 0,003                         | Đạt          | 0,07 ± 0,00    | 0,000          | 0,004                         | Đạt          |

## 2. Kết quả đánh giá độ ổn định trong điều kiện vận chuyển

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ ổn định trong điều kiện vận chuyển

| Lô mẫu | Thông số | Sau vận chuyển<br>(n = 4) |                |        |        | Tiêu chuẩn<br>so sánh | Tiêu chuẩn<br>sánh mờ rộng | Đánh giá<br>độ ổn định |
|--------|----------|---------------------------|----------------|--------|--------|-----------------------|----------------------------|------------------------|
|        |          | T0 (n = 20)<br>Mean ± SD  | Mean ± SD      | % Bias | Bias   |                       |                            |                        |
| Lô C1  | RBC      | 2,17 ± 0,02               | 2,15 ± 0,02    | -0,94  | -0,02  | 0,04                  | 0,06                       | Đạt                    |
|        | HGB      | 65,6 ± 0,82               | 65 ± 0,82      | -0,91  | -0,60  | 1,38                  | 2,27                       | Đạt                    |
|        | HCT      | 0,19 ± 0,00               | 0,20 ± 0,01    | 5,84   | 0,01   | 0,00                  | 0,02                       | Đạt*                   |
|        | MCV      | 85,08 ± 0,11              | 90,88 ± 5,35   | 6,81   | 5,80   | 2,04                  | 7,40                       | Đạt*                   |
|        | MCH      | 30,21 ± 0,48              | 30,13 ± 0,25   | -0,28  | -0,09  | 0,73                  | 1,05                       | Đạt                    |
|        | MCHC     | 355,2 ± 5,71              | 332,75 ± 20,66 | -6,32  | -22,45 | 8,53                  | 29,34                      | Đạt*                   |
|        | RDW%     | 12,72 ± 0,11              | 14,98 ± 1,26   | 17,73  | 2,26   | 0,37                  | 1,63                       | Không đạt              |
|        | WBC      | 3,28 ± 0,08               | 3,23 ± 0,05    | -1,59  | -0,05  | 0,15                  | 0,21                       | Đạt                    |
|        | PLT      | 24,3 ± 1,66               | 22,5 ± 1       | -7,41  | -1,80  | 1,82                  | 3,07                       | Đạt                    |
|        | MPV      | 13,42 ± 0,33              | 13,38 ± 0,22   | -0,3   | -0,04  | 0,41                  | 0,68                       | Đạt                    |
| Lô C2  | PCT      | 0,03 ± 0,00               | 0,03 ± 0       | -6,25  | 0,00   | 0,00                  | 0,00                       | Đạt*                   |
|        | RBC      | 3,31 ± 0,03               | 3,27 ± 0,01    | -1,06  | -0,04  | 0,06                  | 0,08                       | Đạt                    |
|        | HGB      | 99,1 ± 0,79               | 98,5 ± 1       | -0,61  | -0,60  | 2,08                  | 3,14                       | Đạt                    |
|        | HCT      | 0,29 ± 0,00               | 0,30 ± 0,01    | 3,93   | 0,01   | 0,01                  | 0,02                       | Đạt*                   |
|        | MCV      | 86,31 ± 0,11              | 90,58 ± 3,44   | 4,94   | 4,27   | 2,07                  | 5,51                       | Đạt*                   |
|        | MCH      | 29,95 ± 0,19              | 30,05 ± 0,17   | 0,33   | 0,10   | 0,72                  | 0,91                       | Đạt                    |
|        | MCHC     | 347,15 ± 2,37             | 332,25 ± 11,9  | -4,29  | -14,90 | 8,33                  | 20,28                      | Đạt*                   |

| Lô mẫu | Thông số     | Sau vận chuyển<br>(n = 4) |              |        |        | Tiêu chuẩn so sánh |                            | Đánh giá độ ổn định |
|--------|--------------|---------------------------|--------------|--------|--------|--------------------|----------------------------|---------------------|
|        |              | T0 (n = 20)<br>Mean ± SD  | Mean ± SD    | % Bias | Bias   | so sánh            | Tiêu chuẩn so sánh mở rộng |                     |
| Lô C2  | RDW%         | 12,68 ± 0,06              | 14,45 ± 0,75 | 13,96  | 1,77   | 0,37               | 1,12                       | Không đạt           |
|        | WBC          | 5,87 ± 0,08               | 5,80 ± 0,09  | -1,32  | -0,08  | 0,26               | 0,36                       | Đạt                 |
|        | PLT          | 38,4 ± 1,82               | 35,75 ± 1,89 | -6,9   | -2,65  | 2,88               | 4,94                       | Đạt                 |
|        | MPV          | 12,87 ± 0,26              | 13,05 ± 0,55 | 1,44   | 0,19   | 0,39               | 0,95                       | Đạt                 |
|        | PCT          | 0,05 ± 0,00               | 0,05 ± 0,01  | -10    | -0,01  | 0,00               | 0,01                       | Đạt*                |
|        | RBC          | 4,01 ± 0,04               | 3,96 ± 0,03  | -1,28  | -0,05  | 0,07               | 0,10                       | Đạt                 |
|        | HGB          | 120,45 ± 0,83             | 119,25 ± 0,5 | -1     | -1,20  | 2,53               | 3,15                       | Đạt                 |
| Lô C3  | HCT          | 0,35 ± 0,00               | 0,37 ± 0,01  | 4,21   | 0,02   | 0,01               | 0,02                       | Đạt*                |
|        | MCV          | 87,31 ± 0,11              | 92,18 ± 3,32 | 5,58   | 4,87   | 2,10               | 5,42                       | Đạt*                |
|        | MCH          | 30,03 ± 0,25              | 30,18 ± 0,24 | 0,48   | 0,15   | 0,72               | 0,98                       | Đạt                 |
|        | MCHC         | 344,1 ± 2,81              | 327 ± 11,17  | -4,97  | -17,10 | 8,26               | 19,49                      | Đạt*                |
|        | RDW%         | 12,75 ± 0,06              | 14,05 ± 0,70 | 10,2   | 1,30   | 0,38               | 1,07                       | Không đạt           |
|        | WBC          | 9,96 ± 0,15               | 9,89 ± 0,11  | -0,71  | -0,07  | 0,45               | 0,57                       | Đạt                 |
|        | PLT          | 57,45 ± 2,28              | 55 ± 4,76    | -4,26  | -2,45  | 4,31               | 9,18                       | Đạt                 |
| MPV    | 12,75 ± 0,27 | 13 ± 0,35                 | 2            | 0,26   | 0,39   | 0,76               | Đạt                        |                     |
| PCT    | 0,074 ± 0,00 | 0,07 ± 0,01               | -1,36        | 0,00   | 0,00   | 0,01               | Đạt                        |                     |

\*: Đạt ổn định với tiêu chuẩn so sánh mở rộng

## 3. Kết quả đánh giá độ ổn định trong điều kiện bảo quản 2 - 8°C

Bảng 5. Kết quả đánh giá độ ổn định trong điều kiện bảo quản 02-08°C

| Lô mẫu | Thông số | T1 (n = 4) |       |                    | T2 (n = 4) |        |                    | T3 (n = 4) |        |                    | T4 (n = 4) |        |                    |           |
|--------|----------|------------|-------|--------------------|------------|--------|--------------------|------------|--------|--------------------|------------|--------|--------------------|-----------|
|        |          | Tiêu chuẩn | Bias  | Tiêu chuẩn mở rộng | Độ ổn định | Bias   | Tiêu chuẩn mở rộng | Độ ổn định | Bias   | Tiêu chuẩn mở rộng | Độ ổn định | Bias   | Tiêu chuẩn mở rộng |           |
|        | RBC      | 0,04       | -0,01 | 0,06               | Đạt        | -0,03  | 0,05               | Đạt        | -0,03  | 0,05               | Đạt        | -0,06  | 0,06               | Đạt*      |
|        | HGB      | 1,38       | 0,30  | 2,00               | Đạt        | 0,15   | 2,40               | Đạt        | -0,60  | 2,84               | Đạt        | -1,35  | 2,50               | Đạt       |
|        | HCT      | 0,00       | 0,00  | 0,01               | Đạt        | 0,01   | 0,01               | Không đạt  | 0,02   | 0,00               | Không đạt  | 0,03   | 0,01               | Không đạt |
|        | MCV      | 2,04       | 1,52  | 2,28               | Đạt        | 7,27   | 2,35               | Không đạt  | 12,47  | 2,41               | Không đạt  | 17,57  | 2,45               | Không đạt |
|        | MCH      | 0,73       | 0,27  | 1,14               | Đạt        | 0,46   | 1,14               | Đạt        | 0,09   | 1,27               | Đạt        | 0,31   | 1,34               | Đạt       |
| Lô C1  | MCHC     | 8,52       | -2,96 | 13,15              | Đạt        | -23,20 | 13,20              | Không đạt  | -44,20 | 14,46              | Không đạt  | -57,95 | 15,37              | Không đạt |
|        | RDW%     | 0,37       | 1,18  | 0,47               | Không đạt  | 3,18   | 0,47               | Không đạt  | 3,51   | 0,48               | Không đạt  | 3,28   | 0,55               | Không đạt |
|        | WBC      | 0,15       | 0,01  | 0,24               | Đạt        | -0,05  | 0,29               | Đạt        | -0,06  | 0,21               | Đạt        | -0,02  | 0,31               | Đạt       |
|        | PLT      | 1,82       | 0,20  | 4,03               | Đạt        | -0,80  | 3,31               | Đạt        | -1,55  | 2,72               | Đạt        | -3,55  | 5,29               | Đạt*      |
|        | MPV      | 0,41       | 0,16  | 0,78               | Đạt        | 0,48   | 0,87               | Đạt*       | 0,71   | 0,85               | Đạt*       | 2,39   | 1,41               | Không đạt |
|        | PCT      | 0,00       | 0,00  | 0,01               | Đạt        | 0,00   | 0,00               | Đạt*       | 0,00   | 0,00               | Đạt*       | 0,00   | 0,01               | Đạt       |
| Lô C2  | RBC      | 0,06       | -0,04 | 0,11               | Đạt        | -0,04  | 0,08               | Đạt        | -0,04  | 0,10               | Đạt        | -0,05  | 0,08               | Đạt       |



| Lô mẫu | Thông số | T1 (n = 4) |       |                    | T2 (n = 4) |        |                    | T3 (n = 4) |        |                    | T4 (n = 4) |        |                    |           |
|--------|----------|------------|-------|--------------------|------------|--------|--------------------|------------|--------|--------------------|------------|--------|--------------------|-----------|
|        |          | Tiêu chuẩn | Bias  | Tiêu chuẩn mở rộng | Độ ổn định | Bias   | Tiêu chuẩn mở rộng | Độ ổn định | Bias   | Tiêu chuẩn mở rộng | Độ ổn định | Bias   | Tiêu chuẩn mở rộng |           |
| Lô C2  | HGB      | 2,08       | -0,63 | 3,14               | Đạt        | -0,85  | 3,10               | Đạt        | -2,10  | 2,97               | Đạt*       | -1,35  | 3,64               | Đạt       |
|        | HCT      | 0,01       | 0,00  | 0,01               | Đạt        | 0,02   | 0,01               | Không đạt  | 0,04   | 0,01               | Không đạt  | 0,05   | 0,01               | Không đạt |
|        | MCV      | 2,07       | 1,62  | 2,33               | Đạt        | 7,22   | 2,23               | Không đạt  | 12,47  | 2,25               | Không đạt  | 16,79  | 2,53               | Không đạt |
|        | MCH      | 0,72       | 0,22  | 0,98               | Đạt        | 0,10   | 0,85               | Đạt        | -0,25  | 0,88               | Đạt        | 0,03   | 1,17               | Đạt       |
|        | MCHC     | 8,33       | -4,00 | 10,92              | Đạt        | -25,65 | 9,54               | Không đạt  | -46,65 | 10,00              | Không đạt  | -56,65 | 13,57              | Không đạt |
| Lô C3  | RDW%     | 0,37       | 1,00  | 0,47               | Không đạt  | 2,40   | 0,50               | Không đạt  | 2,62   | 0,46               | Không đạt  | 2,35   | 0,52               | Không đạt |
|        | WBC      | 0,26       | -0,02 | 0,32               | Đạt        | -0,10  | 0,35               | Đạt        | -0,14  | 0,34               | Đạt        | 0,04   | 0,35               | Đạt       |
|        | PLT      | 2,88       | -0,90 | 3,88               | Đạt        | -2,40  | 5,04               | Đạt        | -1,90  | 4,41               | Đạt        | -3,15  | 4,83               | Đạt*      |
|        | MPV      | 0,39       | 0,01  | 0,67               | Đạt        | 0,53   | 0,86               | Đạt*       | 0,41   | 0,74               | Đạt*       | 2,31   | 1,09               | Không đạt |
|        | PCT      | 0,00       | 0,00  | 0,00               | Đạt        | 0,00   | 0,01               | Đạt        | 0,00   | 0,00               | Đạt        | 0,00   | 0,01               | Đạt       |
| Lô C3  | RBC      | 0,07       | -0,02 | 0,10               | Đạt        | -0,07  | 0,11               | Đạt        | -0,07  | 0,09               | Đạt        | -0,11  | 0,11               | Đạt*      |
|        | HGB      | 2,53       | 0,25  | 3,60               | Đạt        | 0,05   | 4,94               | Đạt        | -1,45  | 3,43               | Đạt        | -1,45  | 5,01               | Đạt       |
|        | HCT      | 0,01       | 0,01  | 0,01               | Đạt        | 0,02   | 0,01               | Không đạt  | 0,05   | 0,01               | Không đạt  | 0,05   | 0,01               | Không đạt |

| Lô mẫu | T1 (n = 4) |            |      |                    | T2 (n = 4) |       |                    |            | T3 (n = 4) |                    |            |       | T4 (n = 4)         |            |      |                    |
|--------|------------|------------|------|--------------------|------------|-------|--------------------|------------|------------|--------------------|------------|-------|--------------------|------------|------|--------------------|
|        | Thông số   | Tiêu chuẩn | Bias | Tiêu chuẩn mở rộng | Độ ổn định | Bias  | Tiêu chuẩn mở rộng | Độ ổn định | Bias       | Tiêu chuẩn mở rộng | Độ ổn định | Bias  | Tiêu chuẩn mở rộng | Độ ổn định | Bias | Tiêu chuẩn mở rộng |
| MCV    | 2,10       | 1,89       | 2,19 | Đạt                | 7,79       | 2,25  | Không đạt          | 13,15      | 2,28       | Không đạt          | 16,30      | 2,44  | Không đạt          |            |      |                    |
| MCH    | 0,72       | 0,22       | 0,87 | Đạt                | 0,55       | 1,04  | Đạt                | 0,15       | 1,01       | Đạt                | 0,50       | 1,09  | Đạt                |            |      |                    |
| MCHC   | 8,26       | -4,99      | 9,61 | Đạt                | -22,35     | 12,24 | Không đạt          | -44,10     | 10,89      | Không đạt          | -49,35     | 11,67 | Không đạt          |            |      |                    |
| RDW%   | 0,37       | 0,78       | 0,43 | Không đạt          | 1,93       | 0,47  | Không đạt          | 2,03       | 0,47       | Không đạt          | 1,60       | 0,49  | Không đạt          |            |      |                    |
| WBC    | 0,45       | -0,03      | 0,65 | Đạt                | -0,31      | 0,57  | Đạt                | -0,26      | 0,55       | Đạt                | -0,15      | 0,79  | Đạt                |            |      |                    |
| PLT    | 4,31       | -2,95      | 7,87 | Đạt                | -3,20      | 6,75  | Đạt                | -4,20      | 6,30       | Đạt                | -0,20      | 11,47 | Đạt                |            |      |                    |
| MPV    | 0,39       | 0,15       | 0,75 | Đạt                | 0,40       | 0,66  | Đạt*               | 0,31       | 0,90       | Đạt                | 2,63       | 1,15  | Không đạt          |            |      |                    |
| PCT    | 0,00       | 0,00       | 0,01 | Đạt                | 0,00       | 0,01  | Đạt                | 0,00       | 0,01       | Đạt                | 0,01       | 0,02  | Đạt*               |            |      |                    |

\*: Đạt ổn định với tiêu chuẩn so sánh mở rộng

#### IV. BÀN LUẬN

Sản phẩm 03 lô mẫu của nghiên cứu này mô phỏng được hình dạng bên ngoài tương tự mẫu máu toàn phần. Các mẫu sau khi để lắng qua đêm cho thấy sự phân lớp rõ ràng, không có vẩn đục và tán huyết (Hình 1). Điều này phản ánh sự tương thích tốt giữa các thành phần của mẫu, một yếu tố được WHO nhấn mạnh trong quá trình sản xuất mẫu ngoại kiểm.<sup>4</sup> Bên cạnh đó, ISO 17043:2010 đưa ra yêu cầu rằng một nhà cung cấp ngoại kiểm phải có khả năng thiết kế chương trình ngoại kiểm.<sup>14</sup> Số liệu Bảng 2 cho thấy mức số lượng tế bào của 3 lô mẫu đã thiết kế được giá trị từ thấp đến cao cho cả ba loại tế bào máu, thể hiện trên các thông số RBC, WBC, PLT. Điểm hạn chế là PLT của 3 lô mẫu đều ở ngưỡng giá trị thấp, nguyên nhân do thời điểm nghiên cứu bị trùng vào lúc dịch sốt xuất huyết bùng phát khiến vật liệu khối cầu rất thiếu thốn. Tuy vậy, dựa vào điều kiện có sẵn, nghiên cứu đã thiết kế được 3 mức giá trị khác nhau của PLT tỷ lệ thuận với các thể tích thành phần trong Bảng 1.

Kết quả đánh giá độ đồng nhất (Bảng 3) cho thấy 11 thông số RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW%, WBC, PLT, MPV, PCT đều đạt độ đồng nhất trên cả 03 lô mẫu. Do vậy, mẫu sản phẩm đạt độ đồng nhất theo tiêu chuẩn ISO 13528:2015 và đủ điều kiện để tiến hành theo dõi đánh giá độ ổn định.

Đối với đánh giá độ ổn định trong điều kiện vận chuyển, 02 mẫu/lô đã được chọn cho thử nghiệm, trải qua tổng quãng đường > 600km, tổng thời gian vận chuyển < 72h. Thời điểm chúng tôi nhận lại mẫu và tiến hành xét nghiệm là 04 ngày sau thời điểm đánh giá độ đồng nhất. Kết quả Bảng 4 cho thấy 10 thông số RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, WBC, PLT, MPV, PCT đạt độ ổn định trên cả 3 lô. Riêng RDW% không đạt độ ổn định.

Đối với đánh giá độ ổn định trong điều kiện bảo quản 2 - 8°C, kết quả Bảng 5 cho thấy rằng, xét trên cả 3 lô mẫu, 06 thông số RBC, HGB, MCH, WBC, PLT, PCT đạt độ ổn định sau 4 tuần bảo quản. MPV đạt ổn định sau 3 tuần. 3 thông số HCT, MCV, MCHC đạt ổn định sau 1 tuần. Riêng thông số RDW% không ổn định sau 1 tuần. Các kết quả MCV, HCT, MCHC, RDW% đã cho thấy quần thể hồng cầu trong mẫu sản phẩm có sự biến đổi tăng lên về kích thước tế bào theo thời gian. Kích thước của hồng cầu thường bị ảnh hưởng bởi pH và áp suất thẩm thấu.<sup>1</sup> Đo pH của 10 mẫu/lô, 30 kết quả pH nằm trong khoảng 7,22 - 7,34, phù hợp với tiêu chuẩn pH 7,4 ± 0,2 của WHO.<sup>12</sup> Loại trừ được nguyên nhân đến từ pH nhưng trong điều kiện của nghiên cứu, chúng tôi chưa khẳng định được chính xác nguyên nhân đến từ áp suất thẩm thấu hay do hạn chế của quy trình kỹ thuật.

So sánh độ ổn định của mẫu sản phẩm với các nghiên cứu khác: Fink và cộng sự (1998) đã nghiên cứu sản xuất bằng cách xử lý cố định máu toàn phần với aldehyde.<sup>7</sup> Kết quả các thông số RBC, WBC, PLT, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC ổn định 9 tuần trong điều kiện bảo quản ở 2 - 8°C và 20°C. Mẫu ngoại kiểm trong nghiên cứu này có độ ổn định kém hơn. Trong nghiên cứu của Phantip Vattanaviboon và cộng sự (2009) về sản xuất vật liệu kiểm soát cho xét nghiệm đếm tế bào máu động vật, máu toàn phần của lợn được xử lý cố định với dung dịch hỗn hợp aldehyde, mẫu bảo quản ở 2 - 8°C.<sup>8</sup> Kết quả theo dõi 10 thông số WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT, MPV cho thấy ổn định 5 tuần, ngoại trừ MPV tăng và MCHC giảm ở mẫu nồng độ bất thường. Mẫu ngoại kiểm trong nghiên cứu này có độ ổn định kém hơn. Trong nghiên

cứu của Pornphimon Metheenukul và cộng sự (2022) về sản xuất vật liệu kiểm soát từ máu toàn phần của chó, bằng cách cố định với dung dịch hỗn hợp aldehyde, mẫu bảo quản ở 2 - 8°C.<sup>10</sup> Kết quả theo dõi 6 thông số RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC ổn định trong 1 tháng. Mẫu ngoại kiểm trong nghiên cứu này có độ ổn định tương đương trên các thông số RBC, HGB, MCH và tốt hơn trên các thông số WBC, PLT, PCT.

## V. KẾT LUẬN

Sản phẩm của nghiên cứu là ba bộ mẫu ngoại kiểm xét nghiệm đếm tế bào máu đạt tiêu chuẩn về độ đồng nhất. Độ ổn định trong điều kiện vận chuyển và bảo quản thu được, mẫu ngoại kiểm sản xuất theo nghiên cứu này thích hợp để tổ chức ngoại kiểm cho xét nghiệm đếm tế bào máu ngoại vi trên 6 thông số RBC, HGB, MCH, WBC, PLT, PCT với thời hạn chương trình 4 tuần, hoặc trên 10 thông số RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, WBC, PLT, MPV, PCT với thời hạn chương trình 1 tuần.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bain BJ, Bates I, Laffan MA. *Dacie and lewis practical haematology e-book*. Elsevier Health Sciences; 2016.
2. Bộ Y tế. *Quyết định ban hành tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm (Quyết định 2429/QĐ-BYT)*. (2017).
3. Thủ tướng Chính phủ. *Quyết định của Thủ tướng chính phủ phê duyệt đề án tăng cường năng lực hệ thống quản lý chất lượng xét nghiệm y học giai đoạn 2016-2025*. (2016).
4. WHO. *Manual for organizing a national external quality assessment programme for health laboratories and other testing sites*. 2016.
5. Cornet E, Behier C, Troussard X. *Guidance for storing blood samples in laboratories performing complete blood count with differential*. *International journal of laboratory hematology*. 2012; 34(6): 655-660.
6. Mortensen N, Howell HO. The use of formalin-preserved erythrocytes in quality control. *American Journal of Clinical Pathology*. 1966; 45(2):122-124.
7. Fink NE, Fernández Alberti A, Crispini I, Cabutti NV, Mazziotta D. Evaluation and additional recommendations for preparing a whole blood control material. *Revista de Saúde Pública*. 1998; 32:107-111.
8. Vattanaviboon P, Sirisali S, Sirisali K, Manochiopini S, Leelahakul P, Wonglomsom W. Porcine Blood as Control Materials for Animal Blood Cell Analysis. *Agriculture and Natural Resources*. 2008; 42(5): 225-230.
9. Pattanapanyasat K, Nouisri E, Lerdwana S, Sukapirom K, Onlamoon N, Tassaneetrithep B. The use of glutaraldehyde-fixed chicken red blood cells as counting beads for performing affordable single-platform CD4+ T-lymphocyte count in HIV-1-infected patients. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2010; 53(1): 47-54.
10. Metheenukul P, Jarudecha T, Sinsongsaeng N, Wichianchot S, Pusuntisumpun N. Quality control materials from preserved dog blood for routine analysis by automated cell analyzer. 2017:
11. Lewis SM, Organization WH. *Quality assurance in haematology*. 1998.
12. Deom A, El Aouad R, Heuck CC, et al. *Requirements and guidance for external quality assessment schemes for health laboratories*. 1999.
13. Geneva IOFS. *Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*. International Organization for Standardization Geneva; 2015.

14. Geneva IOFS. Conformity assessment International Organization for Standardization  
— General requirements for proficiency testing. Geneva; 2010.

## Summary

### PREPARATION OF EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT MATERIALS FOR COMPLETE BLOOD COUNT

External quality assessment materials play an important role in external quality assessment. The research aims to prepare external quality assessment materials for the complete blood count. Three batches of samples (24 items/lot, V = 2mL) with different levels were prepared as simulated whole blood, containing the following components: human red blood cells fixed with Glutaraldehyde 0.015%, chicken red blood cells fixed with Glutaraldehyde 0.18% (to simulate human white blood cells), human platelet cells fixed with Glutaraldehyde 0.007% and human serum supplemented with antibiotics. The final products were evaluated for quality according to ISO 13528:2015 standards based on two criteria: homogeneity and stability. Obtained results showed that all final products meet the criteria for homogeneity on 11 parameters: RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW%, WBC, PLT, MPV, PCT; stability achieved in transport condition (transportation distance > 600km, transport time < 72h) on 10 parameters: RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, WBC, PLT, MPV, PCT, stability achieved in storage condition at 2 - 8oC for up to 4 weeks on 6 parameters: RBC, WBC, PLT and HGB, MCH, PCT.

**Keywords:** Glutaraldehyde, eqa, full blood count.