



## RESEARCH FOR ESTABLISHMENT OF REFERENCE PANEL FOR CONTROLLING RAPID DIAGNOSIS TESTS OF SARS-COV-2 ANTIBODIES

Le Thi Hoa\*, Vu Thi Thu Huong, Phung Thi Ngoc, Vu Thi Phuong

\* National Institute for Control of Vaccine and Biologicals

Received 3 October 2023

Accepted 6 November 2023

### Abstract

Currently, in the world including Vietnam, there are many rapid diagnostic tests of SARS-COV-2 antigens and antibodies. These test kits must use reference panel for quality control. According to the Food and Drug Administration (FDA)-USA guidelines, reference panel for confirmation testing on manufacturer's published specification manufacturer including 75 negative for anti-SARS-CoV-2 antibodies and 30 samples positive for anti-SARS-CoV-2 antibodies.

In this study, we collected 70 serum samples from volunteers and 75 retrospective serum samples from patients (before April 2019) for research to establish reference panel used to evaluate the quality of rapid diagnostic tests detects antibodies to SARS-CoV-2.

Our study results showed that 50 samples were positive for anti-SARS-CoV-2 antibodies including 3 levels of strong, moderate and weak positive and 75 samples were negative for anti-SARS-CoV-2 antibodies confirmed by the method immunochromatography and immunofluorescence. Among the 50 positive samples and 75 negative samples for anti-SARS-CoV-2 antibodies, the research team selected and establish reference panel including 30 samples positive for anti-SARS-CoV-2 antibodies (including 3 levels of strong, moderate and weak positive) and 75 negative samples with anti-SARS-CoV-2 antibodies that meet the requirements of reference panel that can be used for quality control of rapid diagnostic tests detects antibodies to SARS-CoV-2.

*Keywords: SARS-CoV-2 reference panel, SARS-CoV-2 antibodies, antibody reference panel, COVID-19 antibodies*

\* Corresponding author

E-mail address: lethanhhoa7686@gmail.com

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v3i4.115>

# NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG BỘ MẪU CHUẨN DÙNG TRONG KIỂM ĐỊNH SINH PHẨM CHẨN ĐOÁN NHANH PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ KHÁNG SARS-COV-2

Lê Thị Hòa\*, Vũ Thị Thu Hương, Phùng Thị Ngọc, Vũ Thị Phương

\*Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế

Nhận ngày 3 tháng 10 năm 2023

Chấp nhận đăng ngày 6 tháng 11 năm 2023

## Tóm tắt

Hiện nay, trên thế giới cũng như Việt Nam có nhiều bộ sinh phẩm chẩn đoán nhanh kháng nguyên và kháng thể SARS-COV-2. Các bộ sinh phẩm này đều phải sử dụng bộ mẫu chuẩn để đánh giá chất lượng trước khi đăng ký lưu hành. Theo hướng dẫn của cơ quan quản lý thực phẩm và thuốc (FDA) Hoa Kỳ, bộ mẫu chuẩn cho kiểm tra xác nhận tiêu chuẩn công bố của nhà sản xuất bao gồm tối thiểu 75 mẫu âm tính và 30 mẫu dương tính với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành thu thập 70 mẫu huyết thanh từ các tình nguyện viên và 75 mẫu huyết thanh hồi cứu từ bệnh nhân (trước tháng 04 năm 2019) cho nghiên cứu xây dựng bộ mẫu chuẩn sử dụng cho việc đánh giá chất lượng các sinh phẩm chẩn đoán nhanh phát hiện kháng thể kháng SARS-CoV-2.

Kết quả nghiên cứu cho thấy 50 mẫu dương tính với kháng thể kháng SARS-CoV-2 bao gồm 3 mức dương tính mạnh, trung bình và yếu và 75 mẫu âm tính với kháng thể kháng SARS-CoV-2 được khẳng định bằng phương pháp sắc ký miễn dịch và miễn dịch huỳnh quang. Trong số 50 mẫu dương tính và 75 mẫu âm tính với kháng thể kháng SARS-CoV-2 nhóm nghiên cứu đã lựa chọn và xây dựng bộ mẫu chuẩn gồm 30 mẫu dương tính với kháng thể kháng SARS-CoV-2 (bao gồm 3 mức dương tính mạnh, trung bình và yếu) và 75 mẫu âm tính với kháng thể kháng SARS-CoV-2 đáp ứng được các yêu cầu của mẫu chuẩn có thể sử dụng cho đánh giá chất lượng các sinh phẩm chẩn đoán nhanh kháng thể kháng SARS-CoV-2.

*Từ khoá: mẫu chuẩn kháng thể SARS-CoV-2, kháng thể SARS-CoV-2, mẫu chuẩn kháng thể, kháng thể COVID-19*

## 1. Đặt vấn đề

Đại dịch Covid-19 do vi rút SARS-CoV-2 là một bệnh truyền nhiễm gây ra bởi một

loại vi-rút corona mới được phát hiện là SARS-CoV-2. Tổ chức Y tế Thế giới

(WHO) đã tuyên bố SARS-CoV-2 là khả năng cấp Y tế Công cộng cần Quan tâm Quốc tế vào ngày 30 tháng 1 năm 2020 và nó được công nhận là đại dịch vào ngày 11 tháng 3 năm 2020. Tính đến ngày 09/02/2023 toàn thế giới có hơn 755 triệu ca nhiễm và hơn 6,8 triệu trường hợp tử vong [1,2]. Đại dịch SARS-CoV-2 phát triển nhanh chóng và thị trường thiết bị y tế chẩn đoán in vitro cho SARS-CoV-2 cũng vậy. Đặc biệt, nhiều sinh phẩm chẩn đoán phát hiện kháng thể chống lại vi rút SARS-CoV-2 đang lưu hành trên thị trường thế giới và Việt Nam [3]. Các sinh phẩm này trước và sau khi đưa ra thị trường sử dụng cần được đánh giá chất lượng [4]; Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB) là cơ quan chuyên môn được Bộ Y tế giao cho nhiệm vụ kiểm tra, giám sát đánh giá chất lượng các sinh phẩm chẩn đoán trước và sau khi cấp phép trên thị trường Việt Nam. Hiện nay, việc kiểm tra chất lượng các bộ sinh phẩm chẩn đoán kháng thể SARS-CoV-2 của NICVB còn đang phụ thuộc vào bộ mẫu chuẩn của nhà sản xuất. Để chủ động trong công tác kiểm tra đánh giá chất lượng và không bị phụ thuộc vào nhà sản xuất; việc triển khai nghiên cứu và xây dựng bộ mẫu chuẩn tại NICVB là rất cần thiết. Xuất phát từ thực tế trên, Khoa Sinh phẩm y tế thực hiện

nghiên cứu “xây dựng bộ mẫu chuẩn dùng trong kiểm định cho sinh phẩm chẩn đoán nhanh phát hiện kháng thể kháng SARS-CoV-2” với mục tiêu: xây dựng quy trình và chế tạo bộ mẫu chuẩn dùng trong kiểm định cho sinh phẩm chẩn đoán phát hiện kháng thể kháng SARS-CoV-2. Để xây dựng bộ mẫu chuẩn đáp ứng mục tiêu trên nhóm nghiên cứu đã sử dụng hai phương pháp miễn dịch huỳnh quang và phương pháp sắc ký miễn dịch để khẳng định và phân cấp mức độ yếu, trung bình và mạnh.

## **2. Phương pháp nghiên cứu**

### **2.1 Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu**

Đối tượng nghiên cứu là huyết thanh của người chứa kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2, mẫu huyết thanh của người âm tính với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2. Nghiên cứu được tiến hành tại Khoa Kiểm định Sinh phẩm Y tế, Viện kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế từ tháng 1 năm 2023 đến tháng 4 năm 2023.

**2.2 Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu được thực hiện bằng phương pháp mô tả thực nghiệm trong phòng thí nghiệm.

### **2.3 Vật liệu phục vụ nghiên cứu**

#### **2.3.1 Mẫu thử**

Mẫu thử nghiệm là 70 mẫu huyết thanh được lấy từ những người tình nguyện đã

được tiêm vắc xin phòng vi rút SARS-CoV-2 đủ ít nhất hai mũi trở lên và thời điểm lấy máu cách thời điểm tiêm nhiều nhất là 4 tháng tại Trung tâm dịch vụ khoa học kỹ thuật và y tế-NICVB và 75 mẫu huyết thanh hồi cứu được thu thập từ các bệnh nhân tại bệnh viện Việt Đức (thu thập từ trước tháng 04 năm 2019).

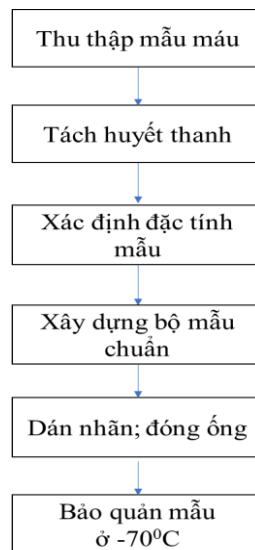
### 2.3.2 Thiết bị, hóa chất và dụng cụ

Máy đọc Standard F200 Analyzer, tủ lạnh, micropipette, tủ an toàn sinh học cấp II các loại đã được hiệu chuẩn hàng năm theo ISO/IEC17025. Sử dụng sinh phẩm

STANDARD™ FCOVID-19IgM/IgG Combo FIA được sản xuất bởi SD BIOSENSOR- Korea và test nhanh Asan Easy Test COVID-19 IgG/IgM được sản xuất bởi Asan Pharmaceutical Co., Ltd.- Korea để kiểm tra sự có mặt hoặc không có mặt của kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2 và phân cấp mức độ kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2.

### 2.4 Quy trình nghiên cứu

Quy trình nghiên cứu được thực hiện theo các bước sau:



Hình 1. Sơ đồ quy trình nghiên cứu xây dựng bộ mẫu chuẩn

#### 2.4.1 Thu thập mẫu huyết thanh

Lựa chọn 70 thành viên tham gia hiến máu vào tháng 3 năm 2023 với điều kiện đã tiêm đủ ít nhất hai mũi vắc xin COVID-19 và thời điểm lấy máu cách thời điểm tiêm nhiều nhất là 4 tháng để xây dựng bộ mẫu

chuẩn dương tính với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2, mỗi thành viên lấy 5ml máu đựng vào các ống vô trùng chuyên biệt; ghi mã mẫu cho từng thành viên và lựa chọn 75 mẫu huyết thanh trữ âm sâu được thu thập từ trước tháng 04 năm 2019 để dùng làm

mẫu chuẩn âm với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2.

#### 2.4.2 Tách huyết thanh

70 mẫu sau khi được thu thập sau 2 tiếng được tách huyết thanh. Đóng chặt nắp ống chứa máu, ly tâm lạnh ở tốc độ 3000-4000 vòng/phút trong 10 - 15 phút/ 4°C để tránh vỡ hồng cầu. Chuẩn bị 02 ống huyết thanh (micro tube 2ml) cho mỗi mẫu máu: một ống dùng cho xác định đặc tính, một ống dùng để làm bộ mẫu chuẩn sau khi đã xác định được đặc tính; các ống được mã hóa cụ thể tránh nhầm lẫn. Kiểm tra thông tin trên nhãn ống huyết thanh để đảm bảo mọi thông tin trên ống lấy máu và ống huyết thanh là trùng khớp. Dùng pi-pét vô trùng, nhẹ nhàng hút huyết thanh ở phần trên của ống lấy máu sau ly tâm, cho vào ống huyết thanh. Đậy và vặn chặt các ống chứa huyết thanh. Các mẫu huyết thanh được lựa chọn

không đục, mờ, vỡ hồng cầu. Mẫu huyết thanh sau khi được lựa chọn trong ống để xây dựng bộ mẫu chuẩn được bảo quản ở tủ -70°C [5].

#### 2.4.3 Xác định đặc tính mẫu huyết thanh thu thập từ người

Các mẫu sau khi tách chiết huyết thanh và các mẫu hồi cứu được đưa ra khỏi điều kiện trữ đông (-70°C) sau đó thực hiện quá trình tan đông bằng cách để ở nhiệt độ phòng (25°C) trong 30 phút. Xác định đặc tính mẫu về độ nhạy và độ đặc hiệu bằng phương pháp miễn dịch huỳnh quang trên bộ sinh phẩm STANDARD™ F COVID-19 IgM/IgG Combo FIA với hệ thống máy Standard F200 Analyzer [6]. Kết quả được đọc theo bảng dưới đây.

STT	Chỉ số kết quả		Nhận định kết quả
	IgM	IgG	
1	COI $\geq$ 1,0	COI < 1,0	Dương tính với kháng thể SARS-CoV-2 IgM
2	COI < 1,0	COI $\geq$ 1,0	Dương tính với kháng thể SARS-CoV-2 IgG
3	COI $\geq$ 1,0	COI $\geq$ 1,0	Dương tính với kháng thể SARS-CoV-2 IgM và IgG
4	COI < 1,0	COI < 1,0	Âm tính với kháng thể SARS-CoV-2 IgM và IgG
5	Không có chỉ số COI; vạch chứng trên vùng đọc kết quả còn xuất hiện khi sử dụng thẻ xét nghiệm		Không hợp lệ cần làm lại thử nghiệm

Dựa vào chỉ số COI để chúng ta có thể khẳng định mẫu huyết thanh đó có chứa hay không chứa kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2.

Ngoài ra các mẫu huyết thanh này cũng được khẳng định bằng phương pháp sắc ký miễn dịch trên bộ sinh phẩm Asan Easy Test COVID-19 IgG/IgM dựa vào độ đậm

của vạch thử từ G3-G10 theo hình 2 dưới đây.

	G1
	G2
	G3
	G4
	G5
	G6
	G7
	G8
	G9
	G10

Hình 2: Thang màu (colormetric scale)

#### 2.4.4 Xây dựng bộ mẫu chuẩn

Dựa vào hướng dẫn của cơ quan quản lý thực phẩm và thuốc (FDA) Hoa Kỳ [7] và hướng dẫn của WHO/BS/2020.2403 về việc xây dựng bộ mẫu chuẩn của kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2 [8] nhóm nghiên cứu đã thực hiện các bước để xây dựng bộ mẫu chuẩn như sau:

##### 2.4.4.1 Lựa chọn mẫu cho bộ mẫu chuẩn

Sau khi lựa chọn và xác định đặc tính có 75 mẫu huyết thanh âm tính và 50 mẫu huyết thanh dương tính được đưa vào bộ mẫu chuẩn. Đối với bộ mẫu chuẩn dương tính được phân làm ba giải nồng độ khác nhau: dương tính mạnh; dương tính trung bình; dương tính yếu. Để phân cấp mức độ cho bộ mẫu chuẩn sử dụng bộ sinh phẩm chẩn đoán test nhanh Asan Easy Test COVID-19

IgG/IgM [9] và dựa vào kết quả đánh giá bằng thang đo màu (colormetric scale).

##### 2.4.4.2 Phân cấp mức độ cho mẫu chuẩn dương tính với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2 bằng phương pháp sắc ký miễn dịch (test nhanh)

Các ứng viên trong bộ mẫu chuẩn chưa được chọn vào mẫu chuẩn dương tính mạnh sẽ được lựa chọn vào mức độ trung bình và yếu. Vì nồng độ kháng thể của các ứng viên khi xác định đặc tính rất cao nên để lựa chọn được các ứng viên vào các mức trung bình và yếu cần phải pha loãng mẫu từ các ứng viên có dương tính mạnh: 1/2; 1/4; 1/8; 1/16; 1/32; 1/64. Sau đó dựa vào kết quả test nhanh để chọn các mẫu cần thiết. Việc kiểm tra mức độ trung bình, yếu sẽ tiến hành bằng test nhanh Asan Easy Test COVID-19 IgG/IgM. Hút 10 $\mu$ l huyết thanh của từng mẫu thử nghiệm sau khi đã được trộn đều vào thanh thử. Nhỏ 2 giọt (70-

100 $\mu$ l) dung dịch đệm vào cửa sổ test nhanh. Đọc kết quả tại 15 phút. Lặp lại quá trình trên trong 3 lần thử nghiệm. Kết quả được đánh giá theo đậm độ của vạch thử (T) so với thang màu chuẩn (colorimetric scale) khi nhìn bằng mắt thường và đánh giá kết

### 2.5. Xử lý, phân tích số liệu và chấp thuận nghiên cứu

Các kết quả được nhập liệu, xử lý và phân tích mô tả và so sánh bằng phần mềm excel. Nghiên cứu được phê duyệt và thực hiện theo quy định của Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế

## 3. Kết quả

### 3.1 Kết quả kiểm xác định đặc tính của các mẫu ứng viên

Sau khi tiến hành tách huyết thanh, lựa chọn mẫu huyết thanh và xác định đặc tính theo quy trình kết quả cho thấy có 50 mẫu huyết

quả từ 1 (âm tính) đến 10 (dương tính rất mạnh) bởi 2 kiểm nghiệm viên. Mức độ được phân cấp theo thang đo màu từ G3-G4: yếu; G5-G8: trung bình; G9-G10: mạnh như hình 2.

thanh dương tính với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2 và 75 mẫu huyết thanh hồi cứu âm tính với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2 bằng cả hai phương pháp sắc ký miễn dịch và miễn dịch huỳnh quang.

### 3.2 Kết quả bộ mẫu chuẩn sau khi lựa chọn

Kết quả của bộ mẫu chuẩn sau khi thực hiện bằng phương pháp sắc ký miễn dịch được mô tả bảng 1

**Bảng 1:** Kết quả bộ mẫu chuẩn bằng phương pháp sắc ký miễn dịch

STT	Phân loại bộ mẫu	Độ đậm vạch thử	Số mẫu
1	Âm tính	G0-G2	75
2	Dương tính yếu	G3-G4	20
3	Dương tính trung bình	G5-G8	15
4	Dương tính mạnh	G9-G10	15
Tổng số mẫu			125

Kết quả của bộ mẫu chuẩn sau khi thực hiện bằng phương pháp miễn dịch huỳnh quang được mô tả bảng 2:

**Bảng 2:** Kết quả bộ mẫu chuẩn bằng phương pháp miễn dịch huỳnh quang

STT	Phân loại bộ mẫu	Kết quả COI	Số mẫu
1	Âm tính	< 1	75
2	Dương tính yếu	12,98 – 17,63	20
3	Dương tính trung bình	14,76 – 17,74	15
4	Dương tính mạnh	17,93 – 18,18	15
Tổng số mẫu			125

Kết quả của bộ mẫu chuẩn dương tính sau khi thực hiện bằng hai phương pháp sắc ký miễn dịch và miễn dịch huỳnh quang được mô tả bằng bảng 3

**Bảng 3:** Kết quả tổng hợp bộ mẫu chuẩn dương tính bằng cả hai phương pháp sắc ký miễn dịch và miễn dịch huỳnh quang

STT	Phân loại bộ mẫu dương tính	Phương pháp miễn dịch huỳnh quang	Phương pháp sắc ký miễn dịch	Số mẫu	Tổng số mẫu
1	Dương tính yếu	12,98 – 17,63	G3-G4	20	50
2	Dương tính trung bình	14,76 – 17,74	G5-G8	15	
3	Dương tính mạnh	17,93 – 18,18	G9-G10	15	

#### 4. Bàn luận

Bệnh do vi rút SARS-CoV-2 (COVID-19) là bệnh được phát hiện vào năm 2019 và nó đã lan rộng ở hầu hết các quốc gia trên thế giới với tỉ lệ nhiễm và tỉ lệ mắc cao cảnh báo về sức khỏe cộng đồng trong việc ứng phó với đại dịch [10]. Việc phát triển vắc xin khẩn cấp và nhanh chóng đang được tiến hành; tính đến ngày 19 tháng 10 năm

2020, có 44 ứng cử viên vắc xin đang được đánh giá lâm sàng, với 10 vắc xin trong giai đoạn 3 thử nghiệm lâm sàng và 154 vắc xin ứng cử viên khác ở giai đoạn tiền lâm sàng [11]. Các phương pháp điều trị khác cũng đang được thử nghiệm lâm sàng bao gồm các loại cocktail chứa kháng thể đơn dòng [12] và huyết tương sử dụng truyền cho bệnh nhân [13,14]. Việc phát triển các xét nghiệm huyết thanh học đối với kháng thể



COVID-19 là rất quan trọng để đánh giá các đáp ứng điều trị và miễn dịch vắc xin trên nhiều nhóm đối tượng khác nhau. Hơn nữa, các xét nghiệm huyết thanh học đáng tin cậy

là cần thiết để đánh giá tác động thực sự của COVID-19 thông qua các nghiên cứu dịch tễ học huyết thanh, vì hầu hết các trường hợp không có triệu chứng và những người có triệu chứng nhẹ hầu như không bị phát hiện [15]. Để đối phó với đại dịch COVID-19, nhu cầu xét nghiệm huyết thanh học nhanh tại chỗ đã tăng lên. Do đó xét nghiệm chẩn đoán nhanh huyết thanh học đã thúc đẩy các nhà sản xuất nghiên cứu và chế tạo các bộ sinh phẩm chẩn đoán nhanh kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2. Các bộ sinh phẩm này trước khi đưa ra thị trường cần được đánh giá chất lượng về độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng bằng bộ mẫu chuẩn đã được xây dựng; do đó nhóm nghiên cứu đã xây dựng bộ mẫu chuẩn cho kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2. Để tiến hành nghiên cứu xây dựng bộ mẫu chuẩn quan trọng nhất là đánh giá được đặc tính của mẫu chuẩn; theo hướng dẫn WHO/BS/2020.2403 có thể sử dụng các phương pháp PCR, ELISA, miễn dịch dòng chảy... để đánh giá về đặc tính của mẫu chuẩn; do đó nhóm nghiên cứu sử dụng hai phương pháp sắc ký miễn dịch (test nhanh) và miễn dịch huỳnh quang. Hai phương pháp đều tiến hành dễ dàng, nhanh chóng,

chi phí không tốn kém, hiệu quả tốt. Phương pháp miễn dịch huỳnh quang nhạy, nhanh và chính xác, tốn ít thời gian [16] nên chúng tôi đã sử dụng phương pháp miễn dịch huỳnh quang để xác định đặc tính mẫu và kết quả cho thấy 50 mẫu huyết thanh thu thập cho kết quả dương tính với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2 có chỉ số COI >1; 75 mẫu huyết thanh hồi cứu cho kết quả âm tính với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2 có chỉ số COI <1. Ngoài ra chúng tôi còn sử dụng phương pháp sắc ký miễn dịch để xác định thêm đặc tính của mẫu với 75 mẫu âm tính đều cho kết quả âm tính với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2; với 50 mẫu dương đều cho kết quả dương tính với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2. Đối với mẫu chuẩn dương tính cần phân cấp mức độ dương tính mạnh, trung bình và yếu để đánh giá chất lượng bộ sinh phẩm, với kết quả nghiên cứu thu được bằng phương pháp miễn dịch huỳnh quang cho 50 mẫu thu thập được có kết quả COI từ 17,40-18,18. Khi thử bằng test nhanh đều cho kết quả từ G9-G10 do đó không thể sử dụng các mẫu ứng viên trên để phân vào nhóm dương tính trung bình và yếu của bộ mẫu chuẩn, sau khi chọn 15 mẫu huyết thanh cho mẫu dương tính mạnh; các mẫu còn lại nhóm nghiên cứu sẽ pha loãng từ độ pha 1/2-1/64 sau đó sử dụng test nhanh để kiểm tra và phân cấp mức độ. Một số kết quả sau khi pha loãng mẫu huyết thanh 1/10 kiểm tra bằng miễn dịch huỳnh quang chỉ số COI: 6,06-7,02 theo tiêu chuẩn mẫu này dương

tính; tuy nhiên khi kiểm tra bằng test nhanh kết quả âm tính. Như vậy miễn dịch huỳnh quang nhạy hơn so với test nhanh; mặt khác kết quả bảng 3 cho thấy test nhanh mẫu dương tính yếu (G3-G4) chỉ số COI nằm trong khoảng 12,98-17,63 trong khi đó mẫu dương tính trung bình của test nhanh (G5-G8) chỉ số COI nằm trong khoảng 14,76-17,74; cho thấy chỉ số COI giữa nhóm trung bình và yếu gần tương đương nhau nên nếu dùng miễn dịch huỳnh quang để phân cấp mức độ thì không đồng thuận với phương pháp sắc ký miễn dịch. Thêm vào đó, một số nghiên cứu về mối tương quan giữa chỉ số COI và nồng độ kháng thể trong huyết thanh/ huyết tương cho thấy không tương quan giữa hai đại lượng này [17]. Do đó để phân mức độ dương tính trung bình và yếu cho bộ mẫu chuẩn nhóm sử dụng bộ mẫu chuẩn cho kiểm định các bộ sinh phẩm nhanh phát hiện kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2 nhóm nghiên cứu sử dụng test nhanh để phân mức độ cho bộ mẫu chuẩn dương tính. Kết quả sau khi pha loãng mẫu nhóm nghiên cứu đã chọn ra được các mẫu có độ pha từ 1/2-1/48 và thử bằng test nhanh mỗi độ pha của từng mẫu lặp lại 3 lần test nhanh đều cho kết quả dương tính. Căn cứ vào mức độ phân cấp theo thang đo màu chuẩn chúng tôi đã thu được 20 mẫu dương tính yếu và 15 mẫu dương tính trung bình. Kết quả cuối cùng nhóm nghiên cứu đã xây dựng được 75 mẫu chuẩn âm tính với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2 và 50 mẫu chuẩn dương tính với kháng thể kháng

SARS-CoV-2 được phân cấp mức độ mạnh, trung bình, yếu. Trong số mẫu chuẩn được lựa chọn sẽ sử dụng 30 mẫu dương tính trong đó có cả dương tính yếu, trung bình và mạnh; 75 mẫu âm tính sử dụng làm bộ mẫu chuẩn để kiểm định các bộ sinh phẩm chẩn đoán nhanh kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2. Bên cạnh những kết quả đạt được do hạn chế về nguồn lực; thời gian gấp rút cho việc kiểm định chất lượng các sinh phẩm chẩn đoán nhanh kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2 nên việc kiểm tra tính ổn định của bộ mẫu chuẩn chưa thực hiện được.

## 5. Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được bộ mẫu chuẩn gồm 75 mẫu chuẩn âm tính với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2; 30 mẫu chuẩn dương tính với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2 trong đó có các mẫu dương tính mạnh; dương tính trung bình; dương tính yếu với kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2 được mã hóa từ COV-002 đến COV-176 đáp ứng được tiêu chuẩn và cơ cấu của bộ mẫu chuẩn sử dụng cho kiểm định bộ sinh phẩm chẩn đoán nhanh phát hiện kháng thể kháng SARS-CoV-2.

## Tài liệu tham khảo

- [1] Wu F, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature. 2020.
- [2][Internet] <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>.

- [3] [Internet] Bộ Y tế. Danh sách sinh phẩm/trang thiết bị y tế chẩn đoán in vitro xét nghiệm SARS-CoV-2 đã được cấp số đăng ký lưu hành, cấp giấy phép nhập khẩu, 2021.
- [4] WHO. Recommendations for national SARS-CoV-2 testing strategies and diagnostic capacities, 2021.
- [5] NICVB, Quy trình chuẩn lấy máu, tách huyết thanh, vận chuyển và lưu giữ mẫu cho xác định hiệu giá kháng thể trong máu (SOP KĐQG-94), 2021.
- [6] [Internet] [https://bestbion.com/wp-content/uploads/2020/07/bestbiondx\\_GA\\_standardf-covid19-IgMIgG-ComboFIA20200713.pdf](https://bestbion.com/wp-content/uploads/2020/07/bestbiondx_GA_standardf-covid19-IgMIgG-ComboFIA20200713.pdf).
- [7] [Internet] <https://www.fda.gov/medical-devices/covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/in-vitro-diagnostics-euas>.
- [8] WHO, Establishment of the WHO International Standard and Reference Panel for anti -SARS-CoV -2 antibody, 2020.
- [9] [Internet] <https://www.asanpharm.com/bbs/board.php> Asan Easy Test® IgG/IgM
- [10] Al-Awaida, W.J.; Jawabrah, A.B.; Swedan, S.; Nimer, R.; Alzoughool, F.; Al-Ameer, H.J.; Al Tamam, S.E.; Alashqar, R.; Albawareed, O.; Gushchina, Y.; et al. Correlates of SARS-CoV-2 Variants on Deaths, Case Incidence and Case Fatality Ratio among the Continents for the Period of 1 December 2020 to 15 March 2021, 2021.
- [11][Internet] <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>.
- [12] DeFrancesco L. COVID-19 antibodies in trial. Nat Biotechnol. published online 21 October 2020. [13] Gharbharan A. et al. Convalescent Plasma for COVID-19. A randomized clinical trial. medRxiv 2020.
- [14] Avedano-Sola C, et al. Convalescent Plasma for COVID-19: A multicenter, randomized clinical trial. MedRxiv, 2020.
- [15] Long QX, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. Nature Medicine. 2020.
- [16] Keren Kang, Lingfang Huang, Chaolin Ouyang, Jiaming Du, Bin Yang, Yaqin Chi, Shuyu He, Le Ying, Guoling Chen, Jihua Wang: Development, performance evaluation, and clinical application of a Rapid SARS-CoV-2 IgM and IgG Test Kit based on automated fluorescence immunoassay, 2020.
- [17] Keren Kang, Lingfang Huang, Chaolin Ouyang, Jiaming Du, Bin Yang, Yaqin Chi, Shuyu He, Le Ying, Guoling Chen, Jihu Development, performance evaluation, and clinical application of a Rapid SARS-CoV-2 IgM and IgG Test Kit based on automated fluorescence immunoassay 24 November 2020.