ESTABLISHMENT OF A PRODUCTION PROCESS AND STABILITY ASSESSMENT OF RED BLOOD CELL REAGENT PANELS FOR QUALITY CONTROL OF ABO BLOOD GROUPING DEVICES

Le Thi Hoa, Phung Thị Ngoc, Tran Thi Trang Huyen, Pham Trung Duc, Vu Thi Thu Huong*

National Institute for Control of Vaccine and Biologicals

Received 26 May 2026

Accepted 30 September 2026

Abstract: Standard red blood cells expressing A or B antigens (or lacking antigens for group O) are essential for the quality control of ABO blood grouping medical devices. However, commercially available standard red blood cells produced by specialized manufacturers are often expensive, difficult to import, and dependent on external suppliers. This study aimed to establish an in-house production process for standard red blood cell panels of blood groups A, B, AB, and O for quality control purposes, and to evaluate their stability and homogeneity. Red blood cells were collected from donors whose blood groups had been determined and who tested negative for transfusion-transmissible infections, including HIV, HBV, and HCV. Blood grouping was confirmed using both forward and reverse methods. Red blood cells were separated from plasma by centrifugation, washed to remove impurities and other plasma proteins, suspended in a specialized preservative solution at a defined concentration, standardized to ensure batch-to-batch uniformity, and packaged. The results demonstrated that the process was feasible and reproducible, with the resulting red blood cells yielding strong and specific agglutination reactions. When stored at 2–8°C, the biochemical, hematological, and antigenic characteristics of the preparations remained stable for up to 28 days.

Keywords: *Red blood cell; Production of red blood cell; Stability of red blood cell; Homogeneity of red blood cell*

* Corresponding author:
E-mail address: huongvu.nicvb@gmail.com
Https://doi.org/10.56086/jcvb.v6i3.266

XÂY DỰNG QUY TRÌNH SẢN XUẤT VÀ ĐÁNH GIÁ ĐỘ ỔN ĐỊNH, TÍNH ĐỒNG NHẤT BỘ HỒNG CẦU TIÊU CHUẨN NHÓM A, B, AB, O SỬ DỤNG TRONG KIỂM ĐỊNH CHẤT LƯỢNG CÁC THIẾT BỊ Y TẾ ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TẠI VIỆN KIỂM ĐỊNH QUỐC GIA VẮC XIN VÀ SINH PHẨM Y TẾ

Lê Thị Hòa, Phùng Thị Ngọc, Trần Thị Trang Huyền, Phạm Trung Đức, Vũ Thị Thu Hường*

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

Nhận ngày 26 tháng 05 năm 2026

Chấp nhận đăng ngày 30 tháng 09 năm 2026

Tóm tắt: Hồng cầu tiêu chuẩn mang kháng nguyên A, B (hoặc không có kháng nguyên-nhóm O) rất cần thiết để kiểm định chất lượng các thiết bị y tế định nhóm máu hệ ABO. Tuy nhiên, hồng cầu tiêu chuẩn thương mại do các hãng chuyên biệt sản xuất thường có giá thành cao, nhập khẩu khó, phụ thuộc nhà cung cấp. Nghiên cứu này nhằm thiết lập quy trình sản xuất bộ hồng cầu tiêu chuẩn nội bộ nhóm máu A, B, AB, O phục vụ công tác kiểm định chất lượng, đồng thời đánh giá tính ổn định, đồng nhất của bộ hồng cầu tiêu chuẩn. Hồng cầu được thu nhận từ người hiến đã định nhóm và sàng lọc các yếu tố lây nhiễm gồm HIV, HBV, HCV; xác định và xác nhận nhóm máu bằng cả hai phương pháp định nhóm xuôi và định nhóm ngược, ly tâm tách hồng cầu khỏi huyết tương, rửa bỏ các tạp chất và các protein huyết tương khác, pha huyền dịch hồng cầu ở nồng độ xác định bằng dung dịch bảo quản chuyên biệt, chuẩn hóa nồng độ hồng cầu đảm bảo đồng nhất giữa các mẫu và đóng gói. Kết quả cho thấy quy trình có tính khả thi, tái lập tốt; các mẫu hồng cầu cho phản ứng ngưng kết mạnh và đặc hiệu. Trong điều kiện bảo quản ở 2–8°C, các chỉ tiêu chất lượng, sinh hóa và huyết học và đặc tính phản ứng kháng nguyên ổn định trong 28 ngày.

***Từ khóa**: Hồng cầu tiêu chuẩn; sản xuất hồng cầu tiêu chuẩn; độ ổn định hồng cầu tiêu chuẩn; độ đồng nhất hồng cầu tiêu chuẩn.*

1. Đặt vấn đề

Trong y học hiện đại, xét nghiệm định nhóm máu giữ vai trò quan trọng trong truyền máu, ghép tạng, sản khoa và cấp cứu, giúp bảo đảm an toàn và hỗ trợ quyết định điều trị [1-2]. Để đáp ứng nhu cầu này, nhiều thiết bị chẩn đoán in vitro (IVD) đã được phát triển với các công nghệ từ truyền thống đến tự động hóa [2-3]. Hồng cầu tiêu chuẩn trong định nhóm máu hệ ABO đóng vai trò là mẫu chuẩn sinh học để đánh giá chất lượng thiết bị chẩn đoán định nhóm máu hệ ABO theo phương pháp huyết thanh mẫu, kiểm chuẩn và hiệu chuẩn thiết bị chẩn đoán định nhóm máu, đồng thời là mẫu chuẩn đối chiếu để kiểm soát chất lượng xét nghiệm, giúp giảm nguy cơ định nhóm máu sai, tránh tai biến truyền máu nghiêm trọng do không tương hợp ABO.

Đối với các cơ quan kiểm định, hồng

cầu tiêu chuẩn là vật liệu tham chiếu nhằm kiểm tra chất lượng các lô thiết bị định nhóm máu hệ ABO trong quá trình trước và sau cấp phép lưu hành [4]. Hồng cầu tiêu chuẩn đóng vai trò như công cụ kiểm định độc lập và khách quan mà cơ quan quản lý sử dụng để kiểm tra, đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu của thiết bị y tế, kiểm tra các lô thiết bị mới, giám sát chất lượng sản phẩm đang lưu hành trên thị trường, từ đó phát hiện sai lệch và cảnh báo rủi ro hoặc thu hồi sản phẩm, góp phần bảo vệ an toàn cho người bệnh [5].

Tại Việt Nam, nhu cầu sử dụng và kiểm định IVD định nhóm máu ngày càng tăng, nhưng nguồn hồng cầu tiêu chuẩn còn hạn chế, chủ yếu phụ thuộc vào nguồn nhập khẩu, gây tốn kém và thiếu chủ động. Trong khi đó, nhiều quốc gia đã xây dựng hệ thống sản xuất hồng cầu tiêu chuẩn đạt tiêu chuẩn quốc tế, bảo đảm tính ổn định và khả năng cung ứng lâu dài.

Hiện nay, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế (NICVB) chưa tự sản xuất được hồng cầu tiêu chuẩn, dẫn đến phụ thuộc vào thị trường cung ứng từ nước ngoài vốn đắt đỏ và dễ gián đoạn. Do đó, việc phát triển sản xuất hồng cầu tiêu chuẩn trong nước sẽ giúp chủ động nguồn vật liệu kiểm định, giảm chi phí, có thể xây dựng bộ hồng cầu phản ánh đặc điểm phân bố nhóm máu trong quần thể địa phương giúp việc kiểm định sát thực tế sử dụng hơn.

Xuất phát từ thực tiễn trên, chúng tôi triển khai nghiên cứu "Xây dựng quy trình sản xuất và đánh giá độ ổn định, tính đồng nhất bộ hồng cầu tiêu chuẩn nhóm A, B, AB, O sử dụng trong kiểm định chất lượng các thiết bị y tế định nhóm máu hệ ABO tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế" với mục tiêu nghiên cứu:

(1) Xây dựng quy trình sản xuất bộ hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O

(2) Đánh giá chất lượng của bộ hồng tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O

(3) Đánh giá độ đồng nhất, độ ổn định của hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là quy trình sản xuất hồng cầu tiêu chuẩn nhóm A, B, AB, O sử dụng trong kiểm định chất lượng các thiết bị IVD định nhóm máu hệ ABO tại NICVB.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 04/2025 đến tháng 11/2025 tại khoa Kiểm định Sinh phẩm Y tế, NICVB.

2.3 Trang thiết bị , vật tư, hóa chất

- Pipet man hãng Eppendorf; máy lắc tuýp-Stuart Scientific; máy lắc phiến-Thermo Fisher; máy ly tâm-Hettich-Đức; kính hiển vi huỳnh quang -Olympus-Nhật bản, tủ cấy vô trùng-Nuaire- Pháp, tủ lạnh bảo quản mẫu-Hitachi- Nhật, tủ ấm-Sanyo-Nhật đã được hiệu chuẩn, thẩm định và bảo dưỡng.

- Nước muối sinh lý 0,9 % - Việt Nam; máu toàn phần các nhóm A, B, O, AB được thu thập từ người hiến máu tại NICVB- Việt Nam; bộ thuốc thử anti – A mã 810 002, anti – B mã 814 002, anti – AB mã 814 002

– Ai cập; hồng cầu tiêu chuẩn A, B, O của Viện HHTM TW- Việt Nam lô HCM0825; thạch TSA- NICVB; dung dịch bảo quản hồng cầu Alsever – Sigma- Mỹ.

- Đầu côn Bình định mức 1000 ml; ống đong 500 ml - Việt Nam;- Lame kính - Đức; ống thuỷ tinh sạch 75x10mm -Việt Nam; phiến nhựa loại 96 giếng – Trung Quốc; giấy dán phiến – Trung Quốc; Lamen- Trung Quốc; lọ đựng hồng câu mẫu 15 ml - Việt Nam

2.4. Thiết kế nghiên cứu:

Mô tả thực nghiệm trong phòng thí nghiệm.

2.5. Phương pháp nghiên cứu:

2.5.1. Cỡ mẫu nghiên cứu

Để thuận tiện cho quá trình nghiên cứu, vừa đáp ứng đầy đủ cho các thí nghiệm, vừa có phần dự phòng khi cần lặp lại hoặc so sánh đối chứng, chúng tôi sản xuất 40 lọ hồng cầu tiêu chuẩn tổng 4 nhóm máu. Trong đó 05 lọ hồng cầu tiêu chuẩn mỗi nhóm A, B, AB, O cho đánh giá chất lượng và độ ổn định; 05 lọ đánh giá độ đồng nhất.

2.5.2. Thu thập mẫu nghiên cứu

Nghiên cứu sẽ được tiến hành chọn mẫu và thu thập số liệu sau khi được sự chấp thuận của hội đồng xét duyệt đề cương và hội đồng đạo đức của Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế. Mẫu máu toàn phần được thu thập từ những người hiến máu tình nguyện, hoàn toàn khỏe mạnh trên 18 tuổi và không có tiền sử mặc bệnh HIV, HCV, HBV. Sau khi thu thập mẫu máu toàn phần sẽ được kiểm tra và loại trừ mẫu bị tan huyết, vẩn đục.

2.5.3. Sàng lọc tác nhân lây nhiễm HIV, HCV, HBV từ người hiến

Mẫu của người hiến được kiểm tra yếu tố lây nhiễm HIV, HCV, HBV bằng phương pháp sắc ký miễm dịch, sử dụng các thiết bị y tế chẩn đoán in vitro có độ nhạy, độ đặc hiệu cao, được cấp phép lưu hành tại Việt Nam.

2.5.4. Xác định và xác nhận nhóm máu bằng hai phương pháp định nhóm máu xuôi và nhóm máu ngược từ người hiến

Nhóm máu của người hiến được xác định và xác nhận bằng hai phương pháp định nhóm máu xuôi và định nhóm máu ngược. Trong đó, định nhóm máu xuôi được thực hiện bằng cách sử dụng hồng cầu người hiến phản ứng với các kháng huyết thanh mẫu anti-A, anti-B và anti-AB; định nhóm máu ngược được thực hiện bằng cách sử dụng huyết thanh người hiến phản ứng với hồng cầu mẫu A và B thương mại. Kết quả của hai phương pháp phải tương hợp để xác nhận chính xác nhóm máu ABO của người hiến.

2.5.5. Thu nhận và xử lý hồng cầu

Sau khi kiểm tra tác nhân lây nhiễm, định nhóm máu, những mẫu máu toàn phần đạt yêu cầu sẽ được tách hồng cầu bằng cách ly tâm mẫu máu toàn phần trong ống falcon 15 ml với tốc độ 2000 vòng/phút, 5 phút, nhiệt độ phòng (20–25 °C); rửa hồng cầu bằng cách thêm dung dịch NaCl 0,9% với thể tích gấp 3–4 lần thể tích cặn hồng cầu trong ống falcon, trộn nhẹ nhàng ly tâm lần 2 với tốc độ 2000 vòng/phút, 5 phút, hút bỏ dịch nổi, lặp lại bước rửa 3 lần để loại bỏ tối đa huyết tương và protein.

Khối hồng cầu sau khi thu nhận từgười hiến sẽ tiến hành phối trộn khối hồng cầu của 3 người tạo thành hỗn hợp khối hồng cầu.

2.5.6. Pha huyền dịch hồng cầu ở nồng độ xác định bằng dung dịch bảo quản

Khối hồng cầu phối trộn được pha thành huyền dịch hồng cầu 5% bằng dung dịch Alsever thương mại. Huyền dịchsau khi pha được phân phối vào lọ thủy tinh nhỏ giọt 10 ml được bảo quản trong tủ lạnh ở điều kiện 2-8^{0}C.

2.5.7. Đánh giá chất lượng hồng cầu

Huyền dịch hồng cầu 5% được đánh giá chất lượng thông qua các chỉ số về cảm quan, độ đặc hiệu, Hematocrit (Hct) và vô khuẩn

Bảng 1. Tiêu chuẩn chất lượng nội bộ của hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O

Chỉ tiêu đánh giá	Tiêu chuẩn chất lượng
Cảm quan	Dung dịch để lắng chia 2 lớp: lớp trên trong, không vẩn đục; lớp dưới chứa khối hồng cầu màu đỏ. Khi lắc nhẹ hồng cầu phân tán đều, dung dịch có màu đỏ đồng nhất
Độ đặc hiệu	Có ngưng kết mạnh và đặc hiệu với kháng huyết thanh đặc hiệu tương ứng/Không ngưng kết với kháng huyết thanh không tương ứng
Hct	3-5 %
Vô khuẩn	Không có nấm và vi khuẩn

2.5.8. Đánh giá độ ổn định

Hồng cầu tiêu chuẩn được đánh giá độ ổn định thông qua các chỉ số về cảm quan, độ đặc hiệu, hiệu giá kháng thể, nồng độ Hct, Na^+, K^+, Hb, RBC, vô khuẩn vào các thời điểm 0 ngày; 07 ngày và 30 ngày. Với chỉ số cảm quan, vô khuẩn không thay đổi tại thời điểm 07 ngày, 30 ngày so với 0 ngày. Chỉ số Hct, Hb, RBC, Na+, K+ có giá trị P >0,05 tại thời điểm 07 ngày, 30 ngày so với thời điểm 0 ngày được coi là ổn định [6].

2.5.9. Đánh giá tính đồng nhất

Hồng cầu tiêu chuẩn được đánh giá tính đồng nhất qua chỉ số độ đặc hiệu, hiệu giá kháng thể, nồng độ Hct, Na^+, K^+, Hb, RBC. Với độ biến thiên của các chỉ số giữa các mẫu có CV<3% được xem là đồng nhất [6].

2.6. Xử lý và phân tích số liệu

- Sử dụng phần mềm Excel tính giá trị CV, giá trị trung bình SD, TMB của các mẫu.

- Sử dụng phần mềm SPSS tính giá trị P.

2.7. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tiến hành trên mẫu máu toàn phần được lấy từ cán bộ y tế NICVB khỏe mạnh và tình nguyện tham gia vào nghiên cứu. Đối tượng tình nguyện tham gia sẽ được tư vấn và cung cấp các thông tin về chương trình nghiên cứu và có quyền rút khỏi nghiên cứu ngay cả khi đã ký vào phiếu tình nguyện tham gia.

- Tất cả các thông tin cá nhân liên quan đến đối tượng tình nguyện sẽ được mã hóa, lưu giữ bảo mật để đảm bảo không có nguy cơ tiết lộ bất kỳ thông tin nào liên quan đến đối tượng tình nguyện.

- Kết quả nghiên cứu sẽ chỉ phục vụ mục đích kiểm định tại NICVB, cam kết không sử dụng cho bất kỳ mục đích nào khác ngoài NICVB.

2.8 Chỉ số nghiên cứu

Bảng 2. Chỉ số nghiên cứu

Chỉ tiêu	Mục đích	Phương pháp đo
Cảm quan	Đánh giá tính chất vật lý, màu sắc, độ trong của dung dịch hồng cầu	Quan sát trực tiếp
Độ đặc hiệu	Đảm bảo phản ứng đúng với kháng huyết thanh, không có phản ứng chéo	Ngưng kết với kháng huyết thanh anti-A, anti-B, anti-AB
Hiệu giá kháng thể	Xác nhận đặc tính kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu	Ngưng kết với kháng nguyên đặc hiệu
Hematocrit (Hct)	Chuẩn hóa nồng độ hồng cầu trong chế phẩm	Đo bằng máy huyết học tự động
Vô khuẩn	Đảm bảo an toàn, không nhiễm nấm và vi khuẩn	Nuôi cấy kiểm tra vi khuẩn/ nấm
Hemoglobin (Hb)	Đánh giá hàm lượng hemoglobin trong hồng cầu tiêu chuẩn	Đo bằng máy huyết học tự động
Số lượng hồng cầu (RBC)	Xác định mật độ hồng cầu trong mẫu	Máy đếm tế bào tự động
Natri (Na^+)	Theo dõi cân bằng điện giải trong dung dịch bảo quản	Đo bằng máy sinh hóa tự động
Kali (K^+)	Đánh giá sự rò rỉ ion từ hồng cầu trong quá trình bảo quản	Đo bằng máy sinh hóa tự động

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Quy trình sản xuất hồng cầu tiêu chuẩn

Sau khi tiến hành nghiên cứu quy trình sản xuất hồng cầu tiêu chuẩn được tiến hành qua các bước sau:

Bước 1: Thu thập mẫu máu toàn phần tham gia nghiên cứu.

Bước 2: Kiểm tra tác nhân lây nhiễm HIV, HCV, HBV, định nhóm máu bằng hai phương pháp định nhóm máu xuôi và định nhóm máu ngược.

Bước 3: Tách hồng cầu mẫu bằng cách rửa hồng cầu với nước muối sinh lý và ly tâm tách lấy khối hồng cầu loại bỏ huyết tương, bạch cầu, tiểu cầu.

Bước 4: Pha chế hỗn hợp hồng cầu bằng cách hỗn 03 khối hồng cầu đã được tách cùng nhóm máu của 03 người với tỷ lệ bằng nhau. Sau đó pha khối hồng cầu hỗn thành hồng cầu 5% bằng dung dịch bảo quản Alsever.

Bước 5: Đóng gói và bảo quản 2-8^{0}C.

3.2. Đánh giá chất lượng hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O

Bảng 3. Kết quả đánh giá chất lượng hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O

Chỉ tiêu đánh giá	Tiêu chuẩn chất lượng	Kết quả hồng cầu nhóm A	Kết quả hồng cầu nhóm B	Kết quả hồng cầu nhóm AB	Kết quả hồng cầu nhóm O
Cảm quan	Dung dịch để lắng chia 2 lớp: lớp trên trong, không vẩn đục; lớp dưới chứa khối hồng cầu màu đỏ. Khi lắc nhẹ hồng cầu phân tán đều, dung dịch có màu đỏ đồng nhất	Dung dịch để lắng chia 2 lớp: lớp trên trong, không vẩn đục; lớp dưới chứa khối hồng cầu màu đỏ. Khi lắc nhẹ hồng cầu phân tán đều, dung dịch có màu đỏ đồng nhất	Dung dịch để lắng chia 2 lớp: lớp trên trong, không vẩn đục; lớp dưới chứa khối hồng cầu màu đỏ. Khi lắc nhẹ hồng cầu phân tán đều, dung dịch có màu đỏ đồng nhất	Dung dịch để lắng chia 2 lớp: lớp trên trong, không vẩn đục; lớp dưới chứa khối hồng cầu màu đỏ. Khi lắc nhẹ hồng cầu phân tán đều, dung dịch có màu đỏ đồng nhất	Dung dịch để lắng chia 2 lớp: lớp trên trong, không vẩn đục; lớp dưới chứa khối hồng cầu màu đỏ. Khi lắc nhẹ hồng cầu phân tán đều, dung dịch có màu đỏ đồng nhất
Độ đặc hiệu	Có ngưng kết mạnh và đặc hiệu với kháng huyết thanh đặc hiệu tương ứng/ Không ngưng kết với kháng huyết thanh không tương ứng	- Có ngưng kết mạnh và đặc hiệu với kháng huyết thanh A; AB - Không ngưng kết với kháng huyết thanh B	- Có ngưng kết mạnh và đặc hiệu với kháng huyết thanh B; AB - Không ngưng kết với kháng huyết thanh A	Có ngưng kết mạnh và đặc hiệu với kháng huyết thanh A; B; AB	Không ngưng kết với kháng huyết thanh A, B, AB
Hct	3-5 %	5 %	5 %	4,87 %	4,85 %
Vô khuẩn	Không có nấm và vi khuẩn	Không có nấm và vi khuẩn	Không có nấm và vi khuẩn	Không có nấm và vi khuẩn	Không có nấm và vi khuẩn

Từ kết quả bảng 3 cho thấy hồng cầu tiêu chuẩn 5% nhóm máu A, B, AB, O đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn.

3.3. Đánh giá tính đồng nhất hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB và O

Bảng 4. Kết quả đánh tính đồng nhất hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O

Hồng cầu tiêu chuẩn	Giá trị MEAN/CV	Độ đặc hiệu	Hiệu giá	Hct (%)	Hb (g/dl)	RBC (Tera/l)	Na+ (mmol/l)	K+ (mmol/l)
Nhóm A	MEAN	12	128	5,17	1,1	0,39	154,25	<1
	CV	0	0	1,12	0	1,47	0,40	0
Nhóm B	MEAN	12	128	5,13	1,0	0,37	153,87	<1
	CV	0	0	2,98	0	2,70	0,10	0
Nhóm AB	MEAN	12	128	4,93	1,0	0,36	154,24	<1
	CV	0	0	2,34	0	2,78	0,41	0
Nhóm O	MEAN	0	0	4,83	1,0	0,38	154,25	<1
	CV	0	0	1,19	0	1,53	0,40	0

Kết quả cho thấy giá trị CV% của các chỉ tiêu kiểm tra trong hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A dao động trong khoảng 0% - 1,47 % (< 3,0%); hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu B dao động trong khoảng 0% - 2,98% (< 3,0%); hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu AB dao động trong khoảng 0% - 2,78% (< 3,0%); hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu O dao động trong khoảng 0% - 1,53% (< 3,0%). Do đó hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O đạt yêu cầu về tính đồng nhất.

3.4. Đánh giá độ ổn định hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O

Bảng 5. Kết quả đánh độ ổn định hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O

Chỉ tiêu	Ngày	Hồng tiêu chuẩn nhóm A		Hồng cầu tiêu chuẩn nhóm B		Hồng cầu tiêu chuẩn nhóm AB		Hồng cầu tiêu chuẩn nhóm O	
		MEAN	SD	MEAN	SD	MEAN	SD	MEAN	SD
Cảm quan	0	Dung dịch để lắng chia 2 lớp: lớp trên trong, không vẩn đục; lớp dưới chứa khối hồng cầu màu đỏ. Khi lắc nhẹ hồng cầu phân tán đều, dung dịch có màu đỏ đồng nhất							
	7	Dung dịch để lắng chia 2 lớp: lớp trên trong, không vẩn đục; lớp dưới chứa khối hồng cầu màu đỏ. Khi lắc nhẹ hồng cầu phân tán đều, dung dịch có màu đỏ đồng nhất							
	30	Dung dịch để lắng chia 2 lớp: lớp trên trong, không vẩn đục; lớp dưới chứa khối hồng cầu màu đỏ. Khi lắc nhẹ hồng cầu phân tán đều, dung dịch có màu đỏ đồng nhất							
Độ đặc hiệu	0	12	0	12	0	12	0	0	0
	7	12	0	12	0	12	0	0	0
	30	12	0	12	0	12	0	0	0

Hiệu giá kháng thể	0	128	0	128	0	128	0	0	0
	7	128	0	128	0	128	0	0	0
	30	128	0	128	0	128	0	0	0
Hct (%)	0	5,0	0	5,0	0	4,77	0,06	4,87	0,12
	7	5,0	0	5,0	0,10	4,70	0	4,80	0,10
	30	4,3	0,17	4,37	0,12	4,33	0,12	4,23	0,06
Hb (g/dl)	0	1,07	0,06	1,1	0	1,0	0	0,9	0
	7	1,07	0,06	1,0	0	1,0	0	0,9	0
	30	1,1	0	1,1	0	1,0	0	1,0	0
RBC (Tera/l)	0	0,36	0,01	0,38	0,01	0,40	0,01	0,38	0,01
	7	0,38	0	0,39	0,01	0,40	0,01	0,39	0,01
	30	0,37	0,02	0,39	0,01	0,41	0,01	0,39	0,01
Na+ (mmol/l)	0	154,52	0,31	154,31	0,56	153,85	0,59	154,52	0,31
	7	152,60	0,39	152,43	0,27	152,55	0,27	152,60	0,20
	30	151,12	0,32	151,73	0,52	151,27	0,54	151,39	0,75
K+ (mmol/l)	0	<1	0	<1	0	<1	0	<1	0
	7	<1	0	<1	0	<1	0	<1	0
	30	2,08	0,02	2,08	0,02	1,92	0,01	2,14	0,03
Vô khuẩn	Ngày 0	Không có nấm và vi khuẩn mọc		Không có nấm và vi khuẩn mọc		Không có nấm và vi khuẩn mọc		Không có nấm và vi khuẩn mọc	
	Ngày 30	Không có nấm và vi khuẩn mọc		Không có nấm và vi khuẩn mọc		Không có nấm và vi khuẩn mọc		Không có nấm và vi khuẩn mọc	

Kết quả nghiên cứu hồng cầu tiêu chuẩn nhóm A, B, AB, O từ ngày 0 đến ngày 30 cho thấy, có sự biến động ở các thông số được theo dõi. Nhóm A, B, AB antigen đạt 12 điểm; hiệu giá kháng thể đạt 128, nhóm O độ đặc hiệu đạt O điểm, hiệu giá 0; vô khuẩn, cảm quan, số lượng trung bình của hồng cầu, nồng độ Hb giữa các thời điểm vẫn giữ ổn định. Nồng độ Hct; Na+ giảm; nồng độ K+ tăng.

4. Bàn luận

4.1. Quy trình sản xuất hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O dùng để kiểm định chất lượng các thiết bị định nhóm máu hệ ABO

Quy trình sản xuất hồng cầu là một chuỗi các bước nghiêm ngặt nhằm đảm bảo sản phẩm cuối cùng đạt chất lượng, an toàn và hiệu quả trong sử dụng lâm sàng. Từ khâu thu thập máu toàn phần, kiểm tra các yếu tố truyền nhiễm, tách chiết, chế tạo hỗn hợp và pha chế hông cầu mẫu cho đến đóng gói, bảo quản, mỗi công đoạn đều cần tuân thủ các tiêu chuẩn kỹ thuật và quy định hiện hành của Bộ Y tế cũng như hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), các hướng dẫn kỹ thuật của Vương quốc Anh cho sản xuất các chế phẩm máu, hướng dẫn chuẩn bị huyền dịch hồng cầu dùng trong xét nghiệm nhóm máu của Bộ y tế Ấn Độ, Tạp chí y học (Tạp chí y học Thành phố Hồ Chí Minh)... Sau khi hồng cầu tiêu chuẩn được sản xuất các chỉ tiêu của hồng cầu tiêu chuẩn cần được kiểm tra: cảm quan; độ đặc hiệu; hiệu giá kháng thể, Hct, vô khuẩn, tất cả các chỉ tiêu này đều đạt yêu cầu.

Chất lượng của hồng cầu tiêu chuẩn cũng bị ảnh hưởng bởi các nguyên nhân: con người, trang thiết bị, nguyên vật liệu, môi trường sản xuất. Quá trình sản xuất hồng cầu tiêu chuẩn trải qua nhiều công đoạn khác nhau, vì vậy để tạo ra hồng cầu tiêu chuẩn có chất lượng ổn định từ lô này đến lô khác là cả một quá trình phức tạp, đòi hỏi sự ổn định ở tất cả các công đoạn, các yếu tố.

Để đảm bảo được sự ổn định về chất lượng sản phẩm, nhóm nghiên cứu đã kiểm soát các yếu tố ảnh hưởng đến thay đổi sản phẩm như con người, trang thiết bị, dụng cụ, môi trường sản xuất một cách chặt chẽ.

Quy trình sản xuất hồng cầu tiêu chuẩn được xây dựng và triển khai theo hướng phù hợp với điều kiện thực tiễn của các cơ sở kiểm định chất lượng các IVD định nhóm máu, đồng thời vẫn bảo đảm những yêu cầu quan trọng về an toàn, chất lượng và khả năng ứng dụng. Các bước tiến hành trong quy trình từ thu thập mẫu máu toàn phần, sàng lọc các yếu tố truyền nhiễm, tách hồng cầu cho đến pha chế và bảo quản sản phẩm đều tuân theo các nguyên tắc cơ bản của thực hành sản xuất IVD dùng trong xét nghiệm.

Một trong những điểm mạnh nổi bật của quy trình là tính khả thi và tính chủ động cao. Việc sử dụng mẫu máu toàn phần từ người hiến tại cơ sở, sau khi được sàng lọc HIV, HBV, HCV và định nhóm máu, tạo ra nguồn nguyên liệu ổn định và an toàn, không phụ thuộc vào nguồn nhập khẩu. Bên cạnh đó, quy trình sản xuất còn có ưu điểm là đơn giản, dễ triển khai và có tính ứng dụng rộng rãi. Các bước thực hiện đều có thể được tiến hành tại các phòng xét nghiệm đã chuẩn hóa mà không cần trang thiết bị quá chuyên sâu. Một điểm đáng ghi nhận nữa là quy trình trong nước đã dựa trên những nguyên lý chung của sản xuất hồng cầu tiêu chuẩn quốc tế, như kiểm soát an toàn truyền nhiễm, chuẩn hóa nồng độ hồng cầu và bảo quản lạnh. So với quy trình của các hãng nước ngoài, quy trình sản xuất hồng cầu tiêu chuẩn của chúng tôi có ưu điểm rõ rệt về tính chủ động và hiệu quả kinh tế. Nếu như sản phẩm nhập khẩu thường yêu cầu thiết bị chuyên sâu, chi phí cao và phụ thuộc vào vận chuyển quốc tế, thì quy trình trong nước cho phép chủ động nguồn nguyên liệu, giảm chi phí và bảo đảm nguồn cung ổn định. Từ những kết quả đạt được, có thể khẳng định quy trình sản xuất hồng cầu tiêu chuẩn của chúng tôi vừa có tính ứng dụng cao, vừa có tiềm năng cải tiến và phát triển trong tương lai. Tuy nhiên phạm vi panel hồng cầu tiêu chuẩn chúng tôi sản xuất còn hạn chế, mới tập trung vào nhóm ABO cơ bản, chưa xây dựng được các panel có kiểu hình kháng nguyên đặc hiệu hoặc hiếm (như Rh subtypes, Kell, Duffy, Kidd…), trong khi đây là đặc điểm nổi bật của các hãng quốc tế giúp panel sử dụng được cho nhiều mục đích kiểm định khác nhau.

4.2. Bàn luận về chất lượng và độ đồng nhất của hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O

4.2.1. Chất lượng

Các hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O khi bảo quản trong dung dịch Alsever thương mại trong bảng 3 đều đạt

yêu cầu tiêu chuẩn đề ra về các chỉ tiêu: cảm quan; độ đặc hiệu; Hct, vô khuẩn. Điều này chứng tỏ quy trình sản xuất đã đáp ứng tốt các tiêu chí cơ bản để sản xuất vật liệu chuẩn sử dụng trong kiểm định IVD định nhóm máu hệ ABO. Các đặc điểm về độ ổn định cảm quan, nồng độ hồng cầu, khả năng ngưng kết đặc hiệu và tính an toàn sinh học đều phù hợp để đưa vào sử dụng trong các phòng xét nghiệm.

Khi so sánh với các panel hồng cầu tiêu chuẩn của nước ngoài, có thể nhận thấy chất lượng hồng cầu tiêu chuẩn trong nước về các chỉ số cơ bản như độ đặc hiệu, đáp ứng giữa kháng nguyên và kháng thể và độ ổn định hình thái không có sự khác biệt đáng kể so với panel hồng cầu của hãng ortho mã 707910, đảm bảo cho ra phản ứng ngưng kết rõ ràng, chính xác khi sử dụng để kiểm định IVD định nhóm máu. Chỉ số Hct của các mẫu cũng nằm trong giới hạn cho phép, tương thích với mức 3–5% mà các hãng như Ortho hay Bio-Rad thường áp dụng.

4.2.2. Độ đồng nhất

Mẫu hồng cầu được sử dụng phổ biến trong kiểm định IVD định nhóm máu, đặc biệt là trong các hệ thống phân tích huyết học tự động. Độ đồng nhất của mẫu này có ý nghĩa quan trọng trong việc đảm bảo tính chính xác, độ lặp lại và độ tin cậy của kết quả kiểm định thiết bị. Một mẫu không đồng nhất có thể dẫn đến sai số phân tích, đánh giá sai chất lượng thiết bị do đó mẫu hồng cầu cung cấp cho kiểm định cần phải đảm bảo được tính đồng nhất. Độ đồng nhất của mỗi nhóm hồng cầu tiêu chuẩn đánh giá các chỉ tiêu về độ đặc hiệu, hiệu giá kháng thể, Hct, RBC, Hb, Na+, K+. Với độ biến thiên của các chỉ tiêu giữa các mẫu có CV<3% được xem là đồng nhất [6]. Trong mẫu hồng cầu nhóm máu A, B, AB, O, kết quả bảng 4 cho thấy sự biến thiên rất thấp về các đặc tính của hồng cầu: cảm quan, độ đặc hiệu, hiệu giá kháng thể, RBC, Hb, Hct và cả tính chất hóa sinh của hồng cầu tiêu chuẩn trong dung dịch bảo quản thể hiện qua nồng độ Na^+ đều có CV<3%; K^+ đều cho kết quả <1mmol/l do ngưỡng phát hiện của hệ thống máy đo với hàm lượng K+ giữa các lọ đều thấp như nhau chứng tỏ các mẫu có sự đồng đều với nhau ở cả 4 nhóm và đủ điều kiện đánh giá tính ổn định của mẫu.

4.3. Độ ổn định của hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB, O

Đảm bảo mẫu ổn định trong suốt thời gian sử dụng là yếu tố quan trọng nhằm duy trì độ chính xác và độ tin cậy của các kết quả xét nghiệm. Nhóm nghiên cứu đã tiến hành đánh giá độ ổn định của mẫu hồng cầu nhóm máu A, B, AB, O tại các thời điểm 0, 7 và 30 ngày sau khi sản xuất với các chỉ số được theo dõi bao gồm Hct, Hb, RBC, Na+, K+, cảm quan, độ đặc hiệu, hiệu giá và vô khuẩn. Số liệu được thu thập tại thời điểm ngày 0 (T0), ngày 7 (T7) và ngày 30 (T30) [6-10]

Kết quả bảng 5 cho thấy mẫu hồng cầu nhóm A, B, AB, O duy trì ổn định tốt về cảm quan, độ đặc hiệu, hiệu giá và độ vô khuẩn trong suốt 30 ngày. Chỉ số Hct ổn định đến ngày thứ 7 và giảm có ý nghĩa thống kê vào ngày thứ 30 so với thời điểm ban đầu ($p< 0,05$) nhưng vẫn nằm trong

giới hạn chấp nhận đối với hồng cầu tiêu chuẩn sử dụng cho kiểm định. Chỉ số Hb duy trì ổn định trong suốt thời gian bảo quản. Số lượng hồng cầu (RBC) của các nhóm B, AB và O không thay đổi đáng kể; mặc dù nhóm A ghi nhận sự khác biệt thống kê ($p<0,05$), giá trị RBC thực tế tăng nhẹ (0,36–0,38 Tera/L), cho thấy sự khác biệt này nhiều khả năng liên quan đến sai số đo của thiết bị hơn là sự suy giảm số lượng hồng cầu. Đồng thời, ở tất cả các nhóm ABO đều ghi nhận xu hướng giảm Na^+ và tăng K^+ theo thời gian bảo quản ($p<0,05$), phản ánh những biến đổi sinh hóa thường gặp của hồng cầu lưu trữ do suy giảm hoạt động bơm Na^+/K^+-ATPase và tăng tính thấm màng tế bào. Tuy nhiên, để đánh giá tác động thực tế lên khả năng sử dụng hồng cầu tiêu chuẩn dùng trong kiểm định IVD, chúng tôi tập trung vào các chỉ số chức năng chính như mức độ ngưng kết, hiệu giá kháng thể của các kháng nguyên, cảm quan, vô khuẩn; mức RBC, Hb, Hct và các chỉ số này đạt yêu cầu; chứng tỏ biến đổi điện giải không có sự thay đổi bất thường hay suy giảm đáng kể về chất lượng của hồng cầu [11]. Điều này cho thấy dung dịch Alsever đáp ứng tốt vai trò duy trì cân bằng điện giải và bảo toàn tính chất của hồng cầu trong điều kiện bảo quản 2-8^{0}C. Các chỉ số về chất lượng, sinh hóa và huyết học nhìn chung ổn định trong suốt thời gian nghiên cứu. Do vậy, chúng tôi vẫn kết luận rằng lô hồng cầu tiêu chuẩn 5% bảo quản trong dung dịch Alsever ổn định trong 30 ngày và nhóm nghiên cứu đưa ra hạn dụng là 28 ngày kể từ ngày sản xuất.

5. Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được quy trình sản xuất bộ hồng cầu tiêu chuẩn nhóm máu A, B, AB và O phục vụ kiểm định chất lượng các thiết bị định nhóm máu hệ ABO. Bộ hồng cầu tiêu chuẩn được sản xuất theo quy trình đáp ứng các yêu cầu chất lượng đã thiết lập. Kết quả đánh giá độ đồng nhất cho thấy các mẫu trong cùng lô có tính đồng nhất tốt. Trong điều kiện bảo quản ở 2–8°C, bộ hồng cầu tiêu chuẩn duy trì được tính ổn định về phản ứng ngưng kết và các đặc tính chất lượng trong thời gian 28 ngày.

Tài liệu tham khảo

[1] World Health Organization. *Safe blood and blood products: Blood grouping and compatibility testing*, Geneva: WHO Press; 2017.

[2] Roback JD, Grossman BJ, Harris T, Hillyer CD. *Technical manual*, 17th edition. Bethesda AABB; 2011.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; Approved guideline—Third edition (EP05-A3)*. Wayne, PA: CLSI;2014.

[4] Clinical and Laboratory Standards Institute. *Characterization and qualification of commutable reference materials for laboratory medicine; Approved guideline (EP30-A).* Wayne, PA: CLSI; 2012.

[5] Daniels G. *Human blood groups.* 3rd edition. Oxford: Wiley-Blackwell; 2013.

[6] Vũ Quang Huy, Hà Mạnh Tuấn, Bùi Quang Sang và cộng sự. Nghiên cứu hoàn thiện sản xuất mẫu hồng cầu theo tiêu chuẩn ISO 17043:2010 ứng dụng trong

ngoại kiểm các xét nghiệm truyền máu. *Tạp chí Y Học TP. Hồ Chí Minh*. 2019; 3: 226-231.

[7] Nguyễn Thiện Thực. *Nghiên cứu sản xuất mẫu ngoại kiểm sử dụng trong chương trình ngoại kiểm tra chất lượng xét nghiệm định nhóm máu[* Luận văn thạc sĩ công nghệ sinh học]. Trường Đại học Bách khoa Thành phố Hồ Chí Minh; 2018.

[8] Trương Thị Lệ. *Nghiên cứu sản xuất mẫu ngoại kiểm cho định nhóm máu hệ ABO – RH* [Khóa luận tốt nghiệp cử nhân y khoa]. Trường Đại học Y Hà Nội; 2017.

[9] Đỗ Thị Thanh Huyền, Hoàng Thị Thanh Nga, Bạch Quốc Khánh và cộng sự. Đánh giá độ đồng nhất và độ ổn định của mẫu ngoại kiểm nhóm máu hệ ABO được sản xuất tại viện huyết học truyền máu Trung ương. *Tạp chí y học Việt Nam*. 2022; 520:115-163.

[10] Nguyễn Thị Kim. *Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất mẫu hồng cầu và huyết thanh theo tiêu chuẩn ISO/IEC 17043:2010 ứng dụng trong ngoại kiểm các xét nghiệm truyền máu* [Luận văn thạc sĩ kỹ thuật y học]. Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh; 2018.

[11] Yang Y, Ma C, Feng Q, Chen X, Guan X, Zhang X, et al. Establishment and performance assessment of preparation technology of internal quality control products for blood transfusion compatibility testing. Experimental and Therapeutic Medicine. 2013;5:1466-1470.