

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT MẪU NGOẠI KIỂM HUYẾT THANH HỌC HBsAg VÀ ANTI - HCV

Phạm Thị Hương Trang¹, Đặng Quang Huy^{1,2}, Đặng Thị Ngọc Dung^{1,3}
và Nguyễn Trần Phương¹, ✉

¹Trung tâm Kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm – Trường Đại học Y Hà Nội,

²Khoa Kỹ thuật y học – Trường Đại học Y Hà Nội,

³Bộ môn Hóa sinh – Trường Đại học Y Hà Nội

Nghiên cứu được thực hiện tại Trung tâm Kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm y học thuộc Trường Đại học Y Hà Nội nhằm chủ động đáp ứng nhu cầu tham gia chương trình ngoại kiểm hiện tại chưa áp dụng tại Việt Nam. Mục tiêu của nghiên cứu này là hoàn thiện quy trình sản xuất mẫu ngoại kiểm huyết thanh học HBsAg và anti - HCV dạng đông khô và thiết kế thử nghiệm chương trình ngoại kiểm cho hai thông số tương ứng. Bộ mẫu ngoại kiểm được sản xuất từ huyết tương người, bao gồm 03 mẫu cho mỗi thông số: mẫu âm tính, mẫu dương tính yếu và mẫu dương tính rõ. Tất cả các mẫu sau khi đánh giá theo hướng dẫn của ISO 13528:2015 đều đảm bảo độ đồng nhất và độ ổn định trong suốt chu kỳ ngoại kiểm. Tất cả 14 phòng xét nghiệm tham gia chương trình thử nghiệm đều được đánh giá là kết quả xét nghiệm “Phù hợp”. Tuy nhiên do bản chất của xét nghiệm và số lượng phòng xét nghiệm tham gia còn ít nên chương trình vẫn cần cải tiến về phương pháp đánh giá kết quả.

Từ khóa: Ngoại kiểm, huyết thanh học, viêm gan B, viêm gan C, HBsAg, anti - HCV.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên thế giới, lượng người nhiễm viêm gan B và viêm gan C là khá cao.^{1,2} Việt Nam là nước thuộc vùng dịch lưu hành rất cao đối với viêm gan B và vùng có tỷ lệ mắc viêm gan C vừa phải.^{1,3} Theo ước tính của Tổ chức y tế thế giới có khoảng 8,6 triệu người nhiễm virus viêm gan B năm 2015. Theo nghiên cứu của Trung tâm Kiểm soát và Phòng chống bệnh của Hoa Kỳ, tỷ lệ nhiễm viêm gan B ở Việt Nam năm 2014 là cao từ 2 – 2,9 %.^{4,5}

Đảm bảo chất lượng xét nghiệm đang là vấn đề được Chính phủ, Bộ y tế và các ban, ngành quan tâm. Trong đó, ngoại kiểm là một công cụ quan trọng để đảm bảo chất lượng xét nghiệm. Việc thực hiện ngoại kiểm chất lượng

xét nghiệm tại Việt Nam mới được triển khai mạnh mẽ trong vài năm gần đây, trong đó lĩnh vực xét nghiệm chẩn đoán nhiễm virus viêm gan B (HBV) và viêm gan C (HCV) chưa có đơn vị nào trực tiếp sản xuất và cung cấp chương trình ngoại kiểm. Muốn tham gia ngoại kiểm, các phòng xét nghiệm cần liên hệ các nhà cung cấp mẫu ngoại kiểm nước ngoài hoặc nhà phân phối tại Việt Nam. Tuy nhiên, việc mua mẫu cũng không đơn giản, việc vận chuyển mẫu, gửi mẫu gặp nhiều khó khăn, đôi khi không mua được mẫu do một số quy định của pháp luật Việt Nam, giá thành mẫu ngoại kiểm cao, chưa kể đến việc trao đổi thực hiện bằng ngôn ngữ khác cũng là yếu tố không thuận lợi đối với nhiều phòng xét nghiệm Việt Nam.

Để thực hiện chức năng, nhiệm vụ của Trung tâm kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm y học trong quản lý, giám sát chất lượng xét nghiệm các phòng xét nghiệm thuộc địa bàn

Tác giả liên hệ: Nguyễn Trần Phương,

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: ngphuong2605@gmail.com

Ngày nhận: 11/05/2020

Ngày được chấp nhận: 07/09/2020

được phân công, và thực hiện Quyết định 316/QĐ-316-TTg ngày 27/02/2016 của Thủ tướng Chính phủ, nhóm nghiên cứu tiến hành thực hiện đề tài “Nghiên cứu sản xuất huyết thanh kiểm tra chất lượng xét nghiệm HBsAg và anti HCV” với 02 mục tiêu:

1. Hoàn thiện quy trình sản xuất mẫu huyết thanh kiểm tra HBsAg, anti - HCV dạng đông khô và đưa ra tiêu chuẩn cơ sở cho bộ mẫu.

2. Thiết kế thử nghiệm chương trình ngoại kiểm cho hai thông số tương ứng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Vật liệu nghiên cứu

Ba loại mẫu huyết tương đều âm tính với HIV, trong đó một loại huyết tương dương tính với HBsAg, một loại huyết tương dương tính với anti - HCV, một loại huyết tương âm tính với cả HbsAg và anti - HCV, HIV được mua từ Trung tâm huyết học truyền máu – Bệnh viện Việt Đức. Các mẫu này đảm bảo chất lượng tốt, không tán huyết, không đông vón. Mẫu có hạn sử dụng hơn 6 tháng kể từ ngày mua và được bảo quản ở điều kiện âm sâu hoặc 2-8°C (dưới 1 tuần).

2. Phương pháp nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 1/2017 đến tháng 6/2018

Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm Kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm y học và Khoa Kỹ thuật y học – Trường Đại học Y Hà Nội

Quy trình nghiên cứu:

Các mẫu huyết tương dương tính được kiểm tra trên thiết bị hóa sinh tự động Cobas 8000 bằng phương pháp điện hóa phát quang. Sau đó các mẫu này được bất hoạt virus bằng cách thêm vào mẫu 1% TnBP và 1% Triton X-100 (tính theo thể tích) và ủ trong bể ủ nhiệt ở 30°C trong 4 giờ (phương pháp Solvent Detergent).

Tất cả các mẫu huyết tương sau đó được

chuyển thành huyết thanh theo phương pháp sử dụng CaCl_2 .

Huyết thanh dương tính sau đó được cô đặc sử dụng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hòa và thẩm tích qua màng lọc (lỗ lọc 10k, đường kính 22 mm) trong dung dịch đệm Triphosphate 0,1M, pH bằng 7, để thu được dung dịch chứa HBsAg và dung dịch chứa anti - HCV nồng độ cao.

Các dung dịch nồng độ cao thu được ở trên được pha vào các mẫu huyết thanh âm tính theo tỉ lệ phù hợp để tạo mẫu ở các mức nồng độ khác nhau. Các mức nồng độ âm tính và dương tính cho mẫu ngoại kiểm Anti-HCV và HBsAg được lựa chọn dựa theo chỉ số ngưỡng (Cut off index - COI). Trong đó, lô âm tính (L0) được thiết kế tại mức nồng độ $< 0,900$ cho cả 2 thông số HBsAg và Anti-HCV. Các lô dương tính được pha loãng từ huyết thanh được cô đặc để đạt các nồng độ lần lượt là 20-30 COI HBsAg (L1), 4-10 COI HBsAg (L2), 90-100 COI Anti-HCV (L3), và 50-60 COI anti - HCV (L4). Nồng độ các lô mẫu được phân tích thực hiện trên hệ thống máy hóa sinh miễn dịch tự động Roche Cobas e602. Các mẫu này được chia nhỏ vào các ống tiệt trùng dung tích 2 ml, 0,5 ml mẫu cho mỗi ống. Các ống mẫu này sẽ được cấp đông rồi tiến hành đông khô.

Một lượng mẫu nhất định cho mỗi lô mẫu được hoàn nguyên và thực hiện xét nghiệm để đánh giá độ đồng nhất bằng phương pháp thống kê ANOVA single factor tại $\alpha = 0,05$. Giá trị p tính được từ phương pháp này nếu lớn hơn 0,05 thì kết luận lô mẫu có độ đồng nhất phù hợp.

Một lượng mẫu khác được sử dụng để đánh giá độ ổn định dài hạn, độ ổn định sau vận chuyển và độ ổn định sau hoàn nguyên. Phương pháp thống kê sử dụng là t-test ở hệ số tin cậy 95%. Giá trị p tính được từ phương pháp này nếu lớn hơn 0,05 thì kết luận lô mẫu có độ ổn định phù hợp

Các mẫu sau khi đảm bảo độ đồng nhất

được đóng gói 3 lớp và được gửi cho các Phòng xét nghiệm đăng ký tham gia chương trình thử nghiệm này. Nhóm nghiên cứu đã mời được 14 phòng xét nghiệm tham gia chương trình ngoại kiểm thử nghiệm, trong đó chỉ có 11/14 phòng xét nghiệm thực hiện xét nghiệm anti - HCV. Với cả 02 loại xét nghiệm HBsAg và anti - HCV đều chia thành 4 nhóm thiết bị. Tuy nhiên chỉ có 2 nhóm thiết bị có số lượng tham gia ≥ 5 là được đánh giá theo nhóm thiết bị, còn lại 2 nhóm thiết bị có số lượng tham gia < 5 được đánh giá theo nhóm tất cả các phương pháp.

Các phòng xét nghiệm thực hiện xét nghiệm HBsAg và anti - HCV trên các mẫu này và gửi kết quả cho nhóm nghiên cứu để được phân tích đánh giá. Phương pháp xác định giá trị gán và độ lệch chuẩn đánh giá là thuật toán A (Robust analysis algorithm A). Kết quả của các phòng xét nghiệm sẽ được đánh giá sử dụng chỉ số độ lệch chuẩn (Standard Deviation Index - SDI).

Độ không đảm bảo đo U_m được tính theo công thức:

$$U_m = \frac{1,25 \times SD}{\sqrt{N}}$$

Trong đó:

U_m : Độ không đảm bảo đo

SD: Độ lệch chuẩn nhóm so sánh

N: Số lượng kết quả trong nhóm so sánh

Chỉ số độ lệch chuẩn được tính theo công thức:

$$SDI = \frac{\text{Kết quả PXN} - \bar{X}}{SD}$$

Trong đó:

SDI: Chỉ số độ lệch chuẩn

\bar{X} : Giá trị trung bình nhóm so sánh

SD: Độ lệch chuẩn nhóm so sánh

3. Xử lý số liệu

Sử dụng phép thống kê t-test, ANOVA single factor test, Cochran C test, thuật toán A trên phần mềm thống kê R.

4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ theo đạo đức nghiên cứu trong Y học. Thông tin của phòng xét nghiệm tham gia được bảo mật. Nghiên cứu thực hiện vì mục đích khoa học.

III. KẾT QUẢ

Tất cả các lô mẫu thử nghiệm đảm bảo độ đồng nhất trước và sau khi thực hiện đông khô (**xem bảng 1**). Sau khi đông khô và bảo quản ở điều kiện nhiệt độ 2-8°C, lô mẫu âm tính L0 ổn định trong ít nhất là 08 tháng, còn lô mẫu dương tính L1 đến L4 đảm bảo ổn định trong 07 tháng (**xem bảng 2**).

Bảng 1. Độ đồng nhất của các lô mẫu sau khi đông khô được tính sử dụng phương pháp ANOVA single factor tại $\alpha = 0,05$. Các giá trị p tính được đều lớn hơn 0,05 và do đó các lô mẫu được coi là có độ đồng nhất phù hợp.

Lô mẫu	Giá trị p (HBsAg)	Lô mẫu	Giá trị p (anti - HCV)
L0	0,1213	L0	0,07079
L1	0,3082	L3	0,3003
L2	0,842	L4	0,9189

Bảng 2. Độ ổn định dài hạn của các lô mẫu ở điều kiện bảo quản 2-8°C được tính sử dụng phương pháp t-test ở độ tin cậy 95%. Các giá trị p tính được đều lớn hơn 0,05 và do đó các lô mẫu được coi là có độ ổn định phù hợp.

Tháng	Giá trị p (HBsAg)			Giá trị p (anti - HCV)		
	Lô L0	Lô L1	Lô L2	Lô L0	Lô L3	Lô L4
9/2017	0,4566	0,4708	0,3033	0,1567	0,8179	0,8167
10/2017	0,5113	0,1623	0,2465	0,5789	0,755	0,1147
11/2017	0,1183	0,2803	0,4721	0,1732	0,08294	0,0801
12/2017	0,6488	0,4721	0,2803	0,3060	0,248	0,6492
1/2018	0,4651		0,3197	0,7271		
2/2018	0,06408	0,3246	0,5098	0,1567	0,2421	0,07232
3/2018	0,9347	0,2962	0,615	0,1195	0,614	0,07835
4/2018	0,8136	0,4273	0,00003355	0,4012	0,7465	0,00001032
5/2018	0,6313	0,008265	0,01054	0,0529	0,00008793	0,0001285

Nhận xét: 100% phòng xét nghiệm tham gia thử nghiệm có kết quả phiên giải trùng với kết quả phiên giải của các lô mẫu (xem bảng 3).

Bảng 3. Kết quả thử nghiệm của các phòng xét nghiệm tham gia thử nghiệm. Đơn vị đo cho cả HBsAg và Anti-HCV là COI.

Lô L0 (anti - HCV)							
Phương pháp	N	\bar{X}	SD	Um	Dương tính	Âm tính	Phù hợp
Roche Cobas 6000/8000	5	0,0438	0,0034	0,0019	0	5	100%
Abbott Architect	5	0,0660	0,0206	0,0115	0	5	100%
Roche Cobas 4000/e411	3	0,0927	0,0085	0,0061	0	3	100%
Siemens Centaur XP	2	0,0350	0,0240	0,0213	0	2	100%
Lô L0 (HBsAg)							
Phương pháp	N	\bar{X}	SD	Um	Dương tính	Âm tính	Phù hợp
Roche Cobas 6000/8000	7	0,4825	0,1308	0,0618	0	7	100%
Abbott Architect	6	0,2712	0,0674	0,0344	0	6	100%

Roche Cobas 4000/e411	3	0,5223	0,0517	0,0373	0	3	100%
Siemens Centaur XP	2	N/A	N/A	N/A	0	2	100%
Lô L1 (HBsAg)							
Phương pháp	N	\bar{X}	SD	Um	Dương tính	Âm tính	Phù hợp
Roche Cobas 6000/8000	7	25,904	11,598	5,4797	7	0	100%
Abbott Architect	6	45,981	10,639	5,4293	6	0	100%
Roche Cobas 4000/e411	3	22,437	3,1655	2,2845	3	0	100%
Siemens Centaur XP	2	131,66	91,619	80,981	2	0	100%
Lô L2 (HBsAg)							
Phương pháp	N	\bar{X}	SD	Um	Dương tính	Âm tính	Phù hợp
Roche Cobas 6000/8000	7	6,4147	0,9213	0,4353	7	0	100%
Abbott Architect	6	12,301	1,8124	0,9249	6	0	100%
Roche Cobas 4000/e411	3	5,9667	0,6469	0,4668	3	0	100%
Siemens Centaur XP	2	32,050	0,3563	0,3149	2	0	100%
Lô L3 (anti - HCV)							
Phương pháp	N	\bar{X}	SD	Um	Dương tính	Âm tính	Phù hợp
Roche Cobas 6000/8000	5	128,16	6,3488	3,5491	5	0	100%
Abbott Architect	5	11,708	1,7790	0,9945	5	0	100%
Roche Cobas 4000/e411	3	88,123	7,2625	5,2412	3	0	100%
Siemens Centaur XP	2	N/A	N/A	N/A	2	0	100%

Lô L4 (anti - HCV)

Phương pháp	N	\bar{X}	SD	Um	Dương tính	Âm tính	Phù hợp
Roche Cobas 6000/8000	5	72,968	3,4816	1,9463	5	0	100%
Abbott Architect	5	14,470	1,3160	0,7356	5	0	100%
Roche Cobas 4000/e411	3	49,860	9,1875	6,6305	3	0	100%
Siemens Centaur XP	2	N/A	N/A	N/A	2	0	100%

IV. BÀN LUẬN

Vật liệu nghiên cứu là đầu vào của quá trình sản xuất mẫu, đóng vai trò quan trọng đến chất lượng mẫu sản xuất sau này nên nhóm nghiên cứu đã lựa chọn nguồn cung cấp kỹ lưỡng. Trường hợp chế phẩm không đạt yêu cầu, nhóm nghiên cứu tiến hành hủy và mua chế phẩm khác. Bên cạnh đó, tất cả các chế phẩm huyết tương này đều có khoảng thời gian từ lúc thu gom đến khi mua về tối đa là 02 tháng, đảm bảo chế phẩm còn đủ thời gian ổn định trong quá trình sản xuất. Tuy nhiên, tại các nơi thu gom, chế phẩm huyết tương dương tính với HBsAg và dương tính với anti - HCV đều bị loại bỏ. Do đó, nguồn chế phẩm dương tính rất hạn chế, không thường xuyên. Đây là một khó khăn trong quá trình sản xuất mẫu.

Chế phẩm huyết tương dương tính với HBsAg và chế phẩm huyết tương dương tính với anti - HCV được bất hoạt virus trước khi thực hiện các kĩ thuật khác để đảm bảo an toàn cán bộ tham gia sản xuất cũng như người sử dụng. Phương pháp bất hoạt sử dụng S/D (dung môi/thuốc tẩy) là phương pháp được áp dụng từ những năm 1980 để bất hoạt virus.⁶ Theo Dichtelmüller HO và các cộng sự công bố năm 2009,⁷ dữ liệu đã chứng minh rằng huyết tương đã bất hoạt virus bằng S/D không có sự lây truyền các virus HIV, virus viêm gan B, virus viêm gan C và các virus có màng khác.

Nhóm nghiên cứu áp dụng phương pháp công bố trong nghiên cứu của Peter Hellstern và các cộng sự công bố năm 1992.⁸ Nồng độ của nhiều thông số, trong đó có protein không thay đổi trước và sau khi bất hoạt.

Vật liệu lý tưởng nhất được khuyến cáo sử dụng là huyết thanh.⁹ Mặc dù nhiều hãng sản xuất hóa chất cho rằng sử dụng huyết tương hay huyết thanh đều được, nhưng huyết tương có xu hướng không ổn định trong quá trình bảo quản và vận chuyển và có thể sinh cục đông một cách tự nhiên, đặc biệt sau khi đông lạnh và rã đông.⁹ Tuy nhiên, hiện tại các nguồn cung cấp không có sẵn chế phẩm huyết thanh nên nhóm nghiên cứu chỉ có thể mua chế phẩm huyết tương và trong quá trình sản xuất chuyển thành huyết thanh. Hiện nay, có một số phương pháp được áp dụng để thực hiện chuyển huyết tương thành huyết thanh như thrombin hóa, phục hồi canxi.^{9,10}

Để đảm bảo sản phẩm thu được có nồng độ protein phù hợp, đồng thời tránh biến tính protein, nhóm nghiên cứu đã lựa chọn phương pháp sử dụng dung dịch muối ammonium sulfate.^{11,12} Bởi nồng độ muối ammonium sulfate được lựa chọn là 100% bão hòa và 50% bão hòa nhằm tách chiết tối đa lượng protein có trong dung dịch ban đầu, việc kết tủa protein thu được có nhiều tạp chất là không thể tránh

khởi. Tuy nhiên, bởi sự có mặt của một số tạp chất khác không gây ảnh hưởng lớn tới nồng độ cuối cùng của chất cần đo, nhóm nghiên cứu đã dừng lại ở bước tách protein bằng muối.

Độ đồng nhất của tất cả các lô mẫu được kiểm tra theo đúng hướng dẫn của ISO 13528:2015 và IUPAC Harmonized Protocol 2006, và kết quả tính toán ra cho thấy tất cả các lô mẫu thử nghiệm được sản xuất ra đạt độ đồng nhất, phù hợp cho mục đích ngoại kiểm tra chất lượng. Tuy nhiên, độ đồng nhất của mẫu hoàn toàn có thể bị ảnh hưởng trong quá trình thực hiện bởi các yếu tố sau: Lượng nước để hoàn nguyên không đúng yêu cầu; thao tác hoàn nguyên không phù hợp; mẫu không được trộn đều trước khi phân tích.

Kết quả kiểm tra độ ổn định dài hạn của mẫu cho thấy mẫu ổn định trong 07 tháng liên tục sau khi sản xuất, không có sự khác biệt đáng kể tại hệ số tin cậy 95% giữa kết quả phân tích các tháng và kết quả kiểm tra độ đồng nhất. Kết quả này đồng thuận với kết quả nghiên cứu của Diminsky và cộng sự¹³ cũng như nghiên cứu của Poe và cộng sự.¹⁴

Do bản chất của nguyên lý xét nghiệm và bán định lượng, số lượng phòng xét nghiệm tham gia còn nhỏ, chương trình mới bắt đầu thử nghiệm, kết quả của phòng xét nghiệm được đánh giá chủ yếu là kết quả phiên giải, giá trị COI chỉ để nhóm nghiên cứu thu thập dữ liệu thử nghiệm.

Nồng độ các lô mẫu dương tính đều ở mức khá cao so với ngưỡng quyết định âm tính cũng có thể là yếu tố thuận lợi để kết quả các phòng xét nghiệm tham gia đều được đánh giá “Phù hợp”. Đây cũng là điểm khó mà nhóm nghiên cứu muốn cải tiến khi thiết kế chương trình ngoại kiểm này trong tương lai.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng quy trình sản xuất chi tiết và tiêu chuẩn cơ sở cho mẫu huyết thanh chuẩn dùng trong nội kiểm tra và ngoại

kiểm tra chất lượng cho hai xét nghiệm HBsAg và Anti-HCV trong điều kiện phòng thí nghiệm và đã sản xuất thành công bộ mẫu kiểm tra chất lượng xét nghiệm ở dạng đông khô, thỏa mãn các yêu cầu theo ISO 13528 và ISO 17043.

Chương trình ngoại kiểm được thiết kế bước đầu thành công cho 14 phòng xét nghiệm tham gia thử nghiệm, sử dụng các phương pháp và hệ máy phân tích phổ biến trên thị trường.

Nghiên cứu trong tương lai sẽ tập trung vào việc thiết kế quy trình sản xuất công nghiệp và thương mại hoá bộ mẫu ngoại kiểm với mục đích đưa vào thị trường, trong đó khắc phục các hạn chế còn tồn tại trong nghiên cứu hiện tại bằng cách bổ sung số lượng mẫu, phòng xét nghiệm tham gia thử nghiệm, và phương pháp thử nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. World Health Organization. Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection. WHO website. http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/154590_9789241549059_eng.pdf;jsessionid=7795655BBDD2193D1CC1B997D94DE01B?sequence=1. Updated March, 2015. Accessed 2018.
2. Mohd Hanafiah, K, Groeger, J, Flaxman, AD, Wiersma, ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*. 2013;57(4):1333-1342.
3. Thrift, AP, El-Serag, HB, Kanwal, F. Global epidemiology and burden of HCV infection and HCV-related disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2016;14(2):122-132.
4. Centers for Disease Control and Prevention, Brunette, GW, ed. Chapter 3: Infectious Diseases Related to Travel. *CDC Yellow Book 2018: Health Information for International Travel*. Oxford: Oxford University Press; 2017.

5. Sievert, W, Altraif, I, Razavi, HA, et al. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Asia, Australia and Egypt. *Liver International*. 2011;31:61-80.
6. Prince, AM, Horowitz, B, Brotman, B. Sterilisation of hepatitis and HTLV-III viruses by exposure to tri(n-butyl)phosphate and sodium cholate. *The Lancet*. 1986;327(8483):706-710.
7. Dichtelmüller, HO, Biesert, L, Fabbrizzi, F, et al. Robustness of solvent/detergent treatment of plasma derivatives: a data collection from Plasma Protein Therapeutics Association member companies. *Transfusion*. 2009;49(9):1931-1943.
8. Hellstern, P, Sachse, H, Schwinn, H, Oberfrank, K. Manufacture and in vitro Characterization of a Solvent/Detergent-Treated Human Plasma. *Vox Sanguinis*. 1992;63(3):178-185.
9. WHO, UNAIDS. Guidelines for Organizing National External Quality Assessment Schemes for HIV Serological Testing. WHO website. <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s15210e/s15210e.pdf>. Updated January, 1996. Accessed 2018.
10. Castro, AR, Kikkert, SE, Fears, MB, Pope, V. Defibrination of Blood Plasma for Use in Serological Tests for Syphilis. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2002;9(6):1376-1378.
11. Englard, S, Seifter, S, Murray, P, ed. [22] Precipitation techniques. *Methods in Enzymology Guide to Protein Purification*. 1990:285-300.
12. Hebert, GA, Pelham, PL, Pittman, B. Determination of the Optimal Ammonium Sulfate Concentration for the Fractionation of Rabbit, Sheep, Horse, and Goat Antisera. *Applied Microbiology*. 1973;25(1):26-36.
13. Diminsky, D, Moav, N, Gorecki, M, Barenholz, Y. Physical, chemical and immunological stability of CHO-derived hepatitis B surface antigen (HBsAg) particles. *Vaccine*. 1999;18(1-2):3-17.
14. Poe, A, Duong, NT, Bedi, K, Kodani, M. Stability of hepatitis C virus RNA and anti-HCV antibody in air-dried and freeze-dried human plasma samples. *Journal of Virological Methods*. 2018;253:53-55.

Summary

RESEARCH FOR PRODUCTION OF SEROLOGY PROFICIENCY TEST ITEM FOR HBsAg AND ANTI - HCV

This research was conducted at the Quality Control Center for Medical Laboratory – Hanoi Medical University in order to meet the continuous demand of medical laboratories for more EQA programs not yet available in Vietnam. The objectives of this research are to finalize procedure for production of HBsAg and anti - HCV lyophilized serology proficiency test items and to conduct an experimental proficiency testing program for the respective parameters. The test items were produced from human plasma, and consisted of 3 separate items per parameter: negative, weak positive and strong positive items. All items were tested for homogeneity and stability following the guidelines of ISO 13528:2015 and were deemed sufficiently homogeneous and stable throughout the course of the program cycle. All 14 laboratories who participated in the experimental program had their test results evaluated as “Acceptable”. However, due to the nature of the tests and the low number of participants, the evaluation process was met with much difficulty and still needs improvement.

Keywords: Proficiency testing, serology, Hepatitis B virus (HBV), Hepatitis C virus (HCV), HBsAg, Anti-HCV.