

ỨNG DỤNG QUY TRÌNH ĐÔNG KHÔ HUYẾT TƯƠNG TRONG SẢN XUẤT MẪU KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG ĐÔNG MÁU

Nguyễn Thị Hào^{1,✉}, Trần Thị Kiều My², Nguyễn Hữu Hùng¹,
Đỗ Thị Hương¹, Đặng Thị Ngọc Dung^{1,3}

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

²Bộ môn Huyết học - Truyền máu – Trường Đại học Y Hà Nội,

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

Nghiên cứu sản xuất bộ mẫu kiểm soát chất lượng xét nghiệm đông máu trong nước để cung cấp cho các phòng xét nghiệm giúp thuận tiện trong triển khai, giám sát, và nâng cao năng lực của Việt Nam trong lĩnh vực quản lý chất lượng xét nghiệm. Nghiên cứu nhằm xây dựng quy trình đông khô huyết tương tươi đông lạnh trên máy Virtis Advantage Pro hãng Sp Scientific tạo sản phẩm đạt tiêu chuẩn quốc tế để sử dụng trong kiểm soát chất lượng xét nghiệm đông máu. Ba lô mẫu (120 lq/lô, V = 1ml) với 03 mức nồng độ khác nhau về các chỉ số đông máu Prothrombin time (PT), APTT, Fibrinogen, Thrombin Time được đông khô theo quy trình thiết lập thử nghiệm. Sản phẩm thu được được đánh giá qua các tiêu chí: cảm quan, độ ẩm tồn dư, độ vô khuẩn, độ đồng nhất và tỉ lệ biến đổi trước và sau đông khô các chỉ số đông máu. Quy trình đông khô cho sản phẩm đồng bánh đẹp, tinh thể huyết tương nhỏ, mịn, độ ẩm tồn dư < 2%, các chỉ số đông máu có tỉ lệ biến đổi thấp < 9,1%. Các lô mẫu đều đạt độ đồng nhất.

Từ khóa: đông khô, đông máu, máy đông khô Sp Scientific, kiểm soát chất lượng xét nghiệm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kiểm soát chất lượng là hoạt động quan trọng trong hệ thống quản lý chất lượng xét nghiệm,¹ giúp phòng xét nghiệm theo dõi công việc, phát hiện lỗi và khắc phục kịp thời, từ đó đảm bảo kết quả được chính xác, tin cậy.^{2,3} Các xét nghiệm đông máu cơ bản (PT, sAPTT, Fibrinogen, Thrombin Time) đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán và điều trị. Các xét nghiệm này cũng cần được thực hiện các hoạt động kiểm soát chất lượng bao gồm nội kiểm và ngoại kiểm để đảm bảo độ tin cậy và giá trị của xét nghiệm.⁴

Các mẫu nội kiểm và ngoại kiểm đông máu hiện nay đều được mua từ nước ngoài. Giá thành sản phẩm cao, việc trao đổi thông tin trong quá trình thực hiện ngoại kiểm còn gặp

nhều khó khăn, chưa loại trừ được các ảnh hưởng từ điều kiện vận chuyển. Do vậy, việc tự nghiên cứu được bộ mẫu nội kiểm, ngoại kiểm trong nước không những giảm được các hạn chế trên mà còn nâng cao năng lực nghiên cứu, tự chủ công nghệ sản xuất các mẫu ngoại kiểm, nội kiểm đáp ứng yêu cầu về hệ thống quản lý chất lượng xét nghiệm của Việt Nam.^{5,6}

Bộ mẫu nội kiểm và ngoại kiểm đông máu được cung cấp bởi các tổ chức trên thế giới là mẫu huyết tương dạng đông khô, có các thành phần tương tự mẫu bệnh nhân.² Mẫu dạng đông khô có khả năng ổn định chất lượng cao, có thể bảo quản dài ngày, dễ dàng vận chuyển. Tuy nhiên, việc thiết kế, xác định nhiệt Eutectic (Teu), điều kiện nhiệt độ, áp suất, thời gian để đưa ra được quy trình cấp đông, thăng hoa, sấy khô sản phẩm vô cùng quan trọng quyết định chất lượng sản phẩm.^{7,8} Ở Việt Nam, có một số nghiên cứu đông khô huyết tương sử dụng cho điều trị bệnh lý đông - cầm máu,⁹ hoặc đông

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Hào,

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: Haont90@gmail.com

Ngày nhận: 13/05/2020

Ngày được chấp nhận: 29/07/2020

khô trong xét nghiệm định lượng virus viêm gan B... Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào tiến hành nghiên cứu sản xuất đông khô mẫu huyết tương tươi đông lạnh dùng cho kiểm soát chất lượng xét nghiệm đông máu. Do vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm mục tiêu: Xây dựng quy trình đông khô huyết tương tươi đông lạnh dùng trong kiểm soát chất lượng xét nghiệm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Chế phẩm huyết tương tươi đông lạnh được thu thập từ người hiến là nam, độ tuổi từ 20 - 40 tuổi, khỏe mạnh, đã loại trừ các bất thường đông cầm máu, Hemoglobin >120 g/l,¹⁰ có hiến máu trong vòng 1 - 2 năm và được thu thập sàng lọc theo quy định về thu gom chế phẩm máu.

Tiêu chuẩn loại trừ: chế phẩm chất lượng không tốt, tán huyết, đông vón, đục.

2. Phương pháp

Phương pháp: Nghiên cứu thực nghiệm trong phòng xét nghiệm

Thời gian nghiên cứu: Tháng 1/2019 - 5/2020

Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm Kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm y học - Trường Đại học Y Hà Nội và Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

Các bước tiến hành:

Thu thập chế phẩm: lựa chọn 10 - 15 đơn vị huyết tương tươi thỏa mãn tiêu chuẩn lựa chọn và đã được cấp đông ở - 35°C ngay trong vòng 1,5 - 2 giờ sau khi lấy máu. Các đơn vị này được xét nghiệm sàng lọc các chỉ số đông máu cơ bản (*PT, aPTT, Fibrinogen, Thrombin Time*) trước khi pool.

Chuẩn bị 03 lô mẫu với 03 mức nồng độ khác nhau: chế phẩm đông lạnh đạt tiêu chuẩn được rã đông (11 đơn vị), sau đó pool và trộn đều bằng cá từ. Xét nghiệm các chỉ số đông máu cơ bản sau pool. Tạo 03 mức nồng độ dự

kiến theo mức quyết định lâm sàng bao gồm mức bình thường (C1), mức bất thường (C2) và mức bất thường cao (C3) bằng cách pha loãng mẫu bằng nước cất free DNA theo các tỉ lệ 1:1 cho lô C2 và 2.8:1 cho lô C3. Bổ sung chất bảo quản HEPES, kháng sinh Gentamicin và penicillin.

Chia mẫu: Mỗi lô mẫu được chia vào 120 lọ thủy tinh, thể tích 1ml

Đông khô mẫu: trong vòng 6 - 8 giờ từ khi lấy máu (không kể thời gian đông lạnh), mẫu được đông khô bằng máy đông khô *Virtis Advantage Pro* hãng *Sp scientific, Mỹ*. với quy trình nhiệt, áp suất và thời gian được thiết kế thử nghiệm như sau:

- Đông lạnh mẫu ở - 30°C trong 200 phút
- Giai đoạn thăng hoa (Sublimation) ở - 25°C, tang dần lên - 15°C, áp suất - 250 mTorr, thời gian 1000 phút
- Giai đoạn sấy thứ cấp hay giải hấp (secondary drying): 25°C trong 120 phút
- Mẫu được đóng nắp dưới áp suất chân không sau khi hoàn thành sấy

Thu mẫu và đánh giá chất lượng mẫu đông khô theo tiêu chuẩn:

Chất lượng mẫu huyết tương tươi đông lạnh theo tiêu chuẩn WHO và tiêu chuẩn quốc gia.

Chất lượng mẫu đông khô sử dụng trong kiểm soát chất lượng đông máu được đánh giá qua các tiêu chí: cảm quan mẫu, độ vô khuẩn, độ ẩm tồn dư, độ đồng nhất của mẫu về khối lượng và các chỉ số đông máu *PT, APTT, Fibrinogen, Thrombin time* và tỉ lệ % thay đổi các chỉ số này trước và sau đông khô (theo tiêu chuẩn WHO và ISO/IEC 13528: 2015)

Các chỉ số nghiên cứu:

- Độ ẩm tồn dư
- Kết quả nuôi cấy vi khuẩn mẫu sau đông khô
- Chỉ số *PT (s,%, INR), APTT (s, ratio), Fibrinogen (s), Thrombin time (s)* trước

đông khô

- Chỉ số *PT* (s,%, *INR*), *APTT* (s, *ratio*), *Fibrinogen* (s), *Thrombin time* (s) sau đông khô

3. Xử lý số liệu

Đánh giá chất lượng mẫu (độ đồng nhất) theo hướng dẫn tiêu chuẩn ISO/ IEC 13528: 2015. So sánh sự khác biệt trước và sau đông khô bằng so sánh 2 giá trị trung bình T - Test.

III. KẾT QUẢ

1. Kết quả đánh giá ban đầu mẫu đông khô

Thời gian từ khi lấy máu cho tới khi mẫu được bắt đầu đông khô (không kể thời gian đông lạnh) là $295,9 \pm 15,47$ phút (**Bảng 1**), đạt tiêu chuẩn đề ra của WHO.¹⁰

Sản phẩm thu được có độ ẩm tồn dư của 03 lô mẫu đều < 2%. Mẫu đông khô đóng bánh đẹp, các lọ mẫu đồng đều, tinh thể huyết tương toí xốp, mịn. Mẫu khi hoàn nguyên đạt độ nhất, màu vàng nhạt.

Mỗi lô mẫu được tiến hành kiểm tra độ vô khuẩn trước và sau đông khô trên 03 loại môi trường thạch máu, Sabouraud và thạch chocolate, mỗi điều kiện nuôi cấy 03 mẫu cho mỗi lô. Kết quả cho thấy tất cả các mẫu đều âm tính (**Bảng 1**).

Bảng 1. Kết quả đánh giá ban đầu mẫu đông khô

STT	Nội dung	Kết quả	
		Tiêu chuẩn	Đạt được
1	Thời gian từ khi lấy máu người hiến tới khi bắt đầu đông khô (phút) (<i>không tính thời gian đông lạnh</i>)	360 - 480	$295,9 \pm 15,47$
2	Độ ẩm tồn dư sau đông khô (%)	Lô C1	$1,84 \pm 0,097$
		Lô C2	< 2
		Lô C3	$1,88 \pm 0,068$
3	Cảm quan mẫu sau đông khô	Mẫu đóng bánh đồng đều Tinh thể toí xốp, mịn Mẫu sau hoàn nguyên đồng nhất	Đạt
4	Đánh giá độ vô khuẩn của mẫu trước và sau đông khô trên môi trường thạch máu, Sabouraud và thạch chocolate	Âm tính	trước và sau đông khô: Âm tính

Mô tả tỉ lệ khác biệt bằng thống kê mô tả. Các tính toán thống kê được tiến hành trên phần mềm R phiên bản 3.6.0.

4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện vì mục đích khoa học, chế phẩm huyết tương được thu thập từ đơn vị sản xuất/ thu gom được cấp phép. Mọi thông tin của đối tượng đều được giữ bí mật tuyệt đối: thực hiện mã hóa chế phẩm huyết tương tươi của người hiến bằng mã code.

2. Đánh giá độ đồng nhất của mẫu đông khô về các chỉ số đông máu

Mẫu đông khô được tiến hành kiểm tra độ đồng nhất theo hướng dẫn ISO/ IEC 13528: 2015: lấy 10 mẫu mỗi lô sau đông khô, phân tích lặp lại 02 lần trên máy *ACL Top 500*, được 20 kết quả cho các chỉ số đông máu cần đánh giá *PT, APTT, Fibrinogen, Thrombin time*. Tính toán các giá trị Mean (trung bình chung mẫu), S_s (Tổng độ lệch chuẩn giữa các mẫu và trong các mẫu), σ_{pt} (độ lệch chuẩn của đánh giá thành thạo). Mẫu đạt độ đồng nhất khi $S_s < 0.3 \times \sigma_{pt}$

Như vậy cả 03 lô mẫu đều đạt độ đồng nhất về các chỉ số *PT (s, %, INR), APTT (s, ratio), Fibrinogen (g/l), Thrombin time (s)* (Bảng 2).

Bảng 2. Đánh giá độ đồng nhất của mẫu đông khô

Thông số	Lô C1 (n = 20)			Lô C2 (n = 20)			Lô C3 (n = 20)		
	0,3 σ_{pt}	S_s	Đánh giá	0,3 σ_{pt}	S_s	Đánh giá	0,3 σ_{pt}	S_s	Đánh giá
PT(s)	0,52	0,00	Đồng nhất	0,78	0,26	Đồng nhất	1,28	0,13	Đồng nhất
PT (INR)	0,05	0,00	Đồng nhất	0,07	0,02	Đồng nhất	0,11	0,10	Đồng nhất
PT(%)	4,49	0,00	Đồng nhất	2,59	0,94	Đồng nhất	1,43	0,31	Đồng nhất
APTT(s)	1,54	0,48	Đồng nhất	2,24	2,23	Đồng nhất	3,11	2,57	Đồng nhất
APTT (ratio)	0,05	0,01	Đồng nhất	0,07	0,07	Đồng nhất	0,09	0,06	Đồng nhất
Fibrinogen	0,15	0,11	Đồng nhất	0,07	0,00	Đồng nhất	0,04	0,03	Đồng nhất
TT(s)	0,74	0,28	Đồng nhất	0,98	0,40	Đồng nhất	1,33	0,92	Đồng nhất

3. Đánh giá sự thay đổi trước và sau đông khô của các mẫu

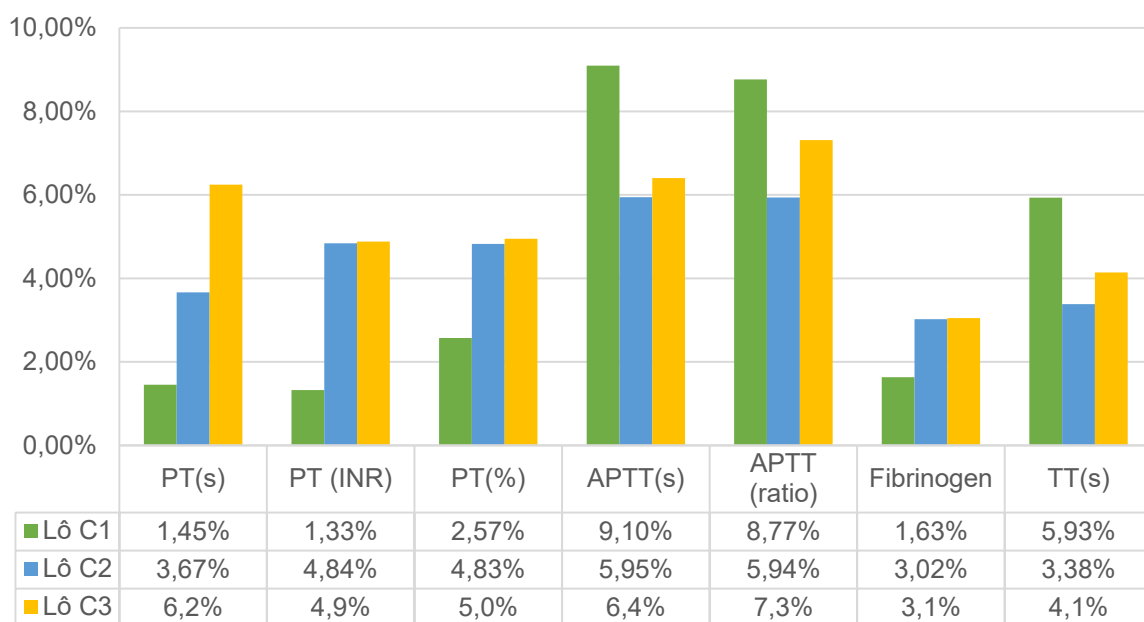
Kết quả nghiên cứu cho thấy đa số các chỉ số đông máu đều có sự thay đổi có ý nghĩa thống kê giữa thời điểm trước và sau đông khô (S_s 0,05) cho cả 03 lô nồng độ, trừ Fibrinogen của Lô C1 và C2 không thấy sự khác biệt trước và sau đông khô ($p > 0,05$) (Bảng 3).

Tuy nhiên tỉ lệ thay đổi giữa sau đông khô và trước đông khô của các chỉ số đều nhỏ với các thông số *PT* có tỉ lệ % thay đổi < 6,2%, và các thông số *APTT, Fibrinogen, Thrombin Time* lần lượt nhỏ hơn 9,1%, 3,2% và 5,93% (Bảng 3, Hình 1)

Bảng 3. So sánh sự thay đổi trước và sau đông khô của mẫu

Lô	Thông số	Mean(SD)		p	95% CI	Tỉ lệ thay đổi (%)
		Trước (n = 20)	Sau (n = 20)			
	PT(s)	11,7 ± 0,357	11,5 ± 0,192	0,0248	(0,028 - 0,312)	1,45%
	PT (INR)	1 02 ± 0,0290	1,00 ± 0,018	0,0021	(0,002 - 0,025)	1,33%
C1	PT(%)	97,3 ± 3,58	99,8 ± 2,47	< 0,001	(- 3,968 - - 1,032)	2,57%

Lô	Thông số	Mean(SD)		p	95% CI	Tỉ lệ thay đổi (%)
		Trước (n = 20)	Sau (n = 20)			
	APTT(s)	31,3 ± 0,413	34,2 ± 0,516	< 0,001	(- 3,152 - - 2,548)	9,10%
	APTT (ratio)	0,965 ± 0,0136	1,05 ± 0,015	< 0,001	(- 0,093 - - 0,076)	8,77%
	Fibrinogen	2,39 ± 0,06	2,43 ± 0,135	0,2841	(- 0,113 - 0,035)	1,63%
	TT(s)	17,4 ± 0,319	16,4 ± 0,310	< 0,001	(0,842 - 1,228)	5,93%
	PT(s)	18,0 ± 0,380	17,3 ± 0,380	< 0,001	(0,457 - 0,863)	3,67%
	PT (INR)	1,56 ± 0,034	1,49 ± 0,032	< 0,001	(0,058 - 0,093)	4,84%
	PT(%)	54,9 ± 1,45	57,6 ± 1,67	< 0,001	(- 3,485 - - 1,815)	4,83%
C2	APTT(s)	47,0 ± 0,607	49,8 ± 2,24	< 0,001	(- 3,924 - - 1,666)	5,95%
	APTT (ratio)	1,44 ± 0,019	1,53 ± 0,069	< 0,001	(- 0,12 - - 0,051)	5,94%
	Fibrinogen	1,24 ± 0,0613	1,21 ± 0,051	0,0526	(- 0,001 - 0,075)	3,02%
	TT(s)	22,6 ± 0,576	21,9 ± 0,659	0,0013	(0,342 - 1,188)	3,38%
	PT(s)	30,5 ± 0,604	28,6 ± 0,524	< 0,001	(1,588 - 2,222)	6,2%
	PT (INR)	2,57 ± 0,135	2,45 ± 0,105	0,003	(0,048 - 0,203)	4,9%
	PT(%)	30,3 ± 1,56	31,8 ± 0,768	< 0,001	(- 2,097 - - 0,902)	5,0%
C3	APTT(s)	73,7 ± 1,22	69,0 ± 2,77	< 0,001	(3,276 - 6,164)	6,4%
	APTT (ratio)	2,26 ± 0,0380	2,10 ± 0,066	< 0,001	(0,129 - 0,202)	7,3%
	Fibrinogen	0,678 ± 0,045	0,647 ± 0,04	0,036	(0,002 - 0,059)	3,1%
	TT(s)	30,9 ± 0,954	29,6 ± 1,12	0,001	(0,569 - 1,991)	4,1%



Hình 1. Biểu đồ thể hiện tỉ lệ thay đổi giữa sau đông khô và trước đông khô của mẫu

IV. BÀN LUẬN

Các yếu tố đông máu có sự biến đổi rất nhanh theo thời gian, do vậy điều kiện tiên quyết để thành công là đảm bảo thời gian thực hiện từ khi lấy máu cho tới khi mẫu được bắt đầu đông khô (không kể thời gian đông lạnh) phải trong vòng 6 - 8 giờ (360 - 480 phút) theo tiêu chuẩn WHO¹⁰ Nghiên cứu của chúng tôi có tổng thời gian từ khi lấy máu người hiến phù hợp cho tới khi mẫu được đưa vào đông khô thỏa mãn tiêu chuẩn đặt ra.

Sau khi xây dựng quy trình sản xuất dựa vào hướng dẫn WHO và quy trình vận hành máy đông khô *Sp Scientific* dựa trên các tài liệu nghiên cứu của hãng^{7,11} chúng tôi tiến hành đông khô 360 mẫu cho 03 lô mẫu và đánh mẫu đông khô qua các tiêu chí về cảm quan, độ ẩm tồn dư, độ vô khuẩn, tính đồng nhất về khối lượng và tính đồng nhất các chỉ số đông máu *PT (s, %, INR)*, *APTT (s, ratio)*, *Fibrinogen (g/l)*, *Thrombin time (s)* cũng như tỉ lệ thay đổi của các chỉ số này. Kết quả đánh giá độ ẩm tồn dư sau đông khô cho 03 lô mẫu đều < 2%, kết quả này thỏa mãn các tiêu chuẩn đưa ra và tương tự với công bố của Mỹ năm 2015 về quy trình đông khô huyết tương¹² và nghiên cứu của Louis Rey và Joan C. May trong lĩnh vực đông khô sinh phẩm,¹³ và nhỏ hơn công bố ứng dụng quốc tế do Hiệp ước hợp tác sáng chế (Patent Cooperation Treaty) với kết quả là < 3%.¹⁴ Mẫu cũng đảm bảo độ vô khuẩn và đồng nhất về khối lượng theo tiêu chuẩn WHO.¹⁰

Để mẫu có thể ứng dụng vào thực tế, trước tiên các mẫu cần đạt tiêu chí đồng nhất về các chỉ số xét nghiệm với $S_s < 0,3 \rho_{pt}$. Nếu mẫu không đạt độ đồng nhất sẽ bị loại bỏ và xem xét lại quy trình sản xuất cũng như chế phẩm. Theo tiêu chuẩn và hướng dẫn của TCVN ISO/ IEC 17043: 2011, TCVN 8245 và ISO/IEC 13528: 2015(E),³ lấy ngẫu nhiên 10% số lượng mẫu sản xuất (ít nhất 10 mẫu) để đánh giá. Trong

nghiên cứu này, chúng tôi lấy ngẫu nhiên 10 lọ mỗi lô, tiến hành hoàn nguyên bằng nước Free DNA, sau đó phân tích các chỉ số đông máu trên thiết bị *ACL Top 500*, lặp lại 2 lần để đánh giá độ đồng nhất của mẫu. Kết quả thu được tất cả các chỉ số đều đạt độ đồng nhất với $S_s < 0,3 \rho_{pt}$. Như vậy, có thể kết luận tất cả các lô mẫu đông khô đều đồng nhất và đủ điều để theo dõi độ ổn định cũng như quy trình đông khô xây dựng đáp ứng yêu cầu sản xuất mẫu kiểm soát chất lượng xét nghiệm đông máu theo ISO/IEC 13528: 2015 (E).³

Bên cạnh việc đánh giá độ đồng nhất, nghiên cứu của chúng tôi tiến hành đánh giá sự thay đổi của các chỉ số đông máu *PT (s, %, INR)*, *APTT (s, ratio)*, *Fibrinogen (g/l)*, *Thrombin time (s)* sau đông khô so với trước đông khô. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê của các chỉ số xét nghiệm giữa trước và sau đông khô ($p < 0,05$), trừ *Fibrinogen* không có sự thay đổi ở lô C1 và C2 ($p > 0,05$). Tỉ lệ thay đổi của thông số *PT* ở mức nồng độ bình thường (sinh lý) là < 3%, ở các mức bất thường C2, C3 dao động từ 3,5 - 6,2%, *APTT* thay đổi dao động từ 5,9 - 9,1 %, trong khi tỉ lệ này < 3,1% đối với *Fibrinogen* và 6% đối với *Thrombin Time*. Tỉ lệ này nhỏ hơn trong nghiên cứu của Christophe Martinaud và cộng sự tiến hành so sánh sự khác biệt giữa huyết tương tươi đông khô và huyết tương tươi thì sự thay đổi là 8 ± 3 % đối với thông số *Prothrombin time*, và 11 ± 5 % đối với *APTT*.¹⁵

Như vậy, có thể thấy quy trình xây dựng để chuẩn bị và đông khô huyết tương tươi đông lạnh dùng cho sản xuất bộ mẫu kiểm soát chất lượng đông máu là phù hợp, cho sản phẩm có chất lượng đạt tiêu chuẩn.

V. KẾT LUẬN

Hoàn thành quy trình đông khô huyết tương tươi đông lạnh bằng máy đông khô *Virtis Advantage Pro*.

Với quy trình thiết lập sản phẩm đông khô

đạt chất lượng tốt, đáp ứng tiêu chuẩn WHO, ISO/IEC 13528: 2015 về cảm quan, độ ẩm, độ vô khuẩn, độ đồng nhất và tỉ lệ thay đổi trước và sau đông khô của các chỉ số đông máu.

Từ kết quả trên cho thấy quy trình có thể áp dụng để tiếp tục nghiên cứu sản xuất bộ mẫu kiểm soát chất lượng xét nghiệm đông máu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. J.C. Libeer. Role of external quality assurance schemes in assessing and improving quality in medical laboratories. *Clin Chim Acta*. 2001;2(309):173 - 177.

2. J.O Westgard, Đặng Thị Ngọc Dung. *Kiểm Soát Chất Lượng Xét Nghiệm và Thống Kê Trong Kiểm Soát Chất Lượng Xét Nghiệm y Học*. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật; 2018.

3. *Statistical Methods for Use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparison: ISO/IEC 13528: 2015 (E)*. BSI British Standards doi:10.3403/30237515

4. *TCVN ISO 15189: 2014 (ISO 15189: 2012) Phòng thí nghiệm y tế - Yêu cầu về chất lượng và năng lực*. Vol Xuất bản lần 1. Tiêu chuẩn quốc gia; 2014.

5. 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. In: ; 2016.

6. Quyết định ban hành tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm. Published online 2017. Quyết định 2429/QĐ - BYT

7. John Barley, Sp Scientific. Basic

Principles of Freeze Drying. Published online August 25, 2018. <https://www.spscientific.com/freeze-drying-lyophilization-basics>

8. Eva Meister aus Münchberg. *Methodology, Data Interpretation and Practical Transfer of Freeze - Dry Microscopy*.; 2009.

9. Ngô Duy Thìn, Đỗ Trung Phần. Nghiên cứu quy trình đông khô huyết tương tươi dùng cho điều trị bệnh bằng máy đông khô Ly3 - TTE/DM8 của Hà lan. *Tạp Chí Nghiên Cứu Học*. 2007;49(3):65 - 69.

10. A. Deom, R.El Aouad, C.C Heuck. *Requirements and Guidance for External Quality Assessment Schemes for Health Laboratories*.; 1999. WHO/DILJLAB/ 99.2

11. Topp EM, Chair DOK. Sp Scientific Webinar July 28, 2015. :58.

12. Anne Sailliol, Chatenay Malabry. Patent Application Publication: Blood plasma lyophilization process. *Int CIAOIN 102*. Published online July 23, 2015.

13. Rey L, May JC, eds. *Freeze Drying/ Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products*. 3rd ed. Informa Healthcare; 2011.

14. Internationnal application published under The Patent Cooperation Treaty (PCT): Lyophilization process. *World Intellectual Property Organization*. July 24, 2014.

15. Martinaud C, Civadier C, Ausset S, Verret C, Deshayes A - V, Sailliol A. In Vitro Hemostatic Properties of French Lyophilized Plasma: *Anesthesiology*. 2012;117(2):339 - 346. doi:10.1097/ALN.0b013e3182608cdd.

Summary

LYOPHILIZATION OF FRESH FREEZE PLASMA AS QUALITY CONTROL SPECIMEN FOR COAGULATION TESTING

This study is to design a manufacturing process to produce quality control specimens to distribute to all laboratories in the country; the purpose is to increase convenience, to improve the monitoring process and the competency of Vietnam in the area of laboratory quality control. We design a process for lyophilization of fresh freeze plasma using an instrument of SP Scientific Company, named Virtis Advantage Pro. The product must satisfy the international standard for use in laboratory quality control of coagulation. Three lots of different concentration to be used for coagulation tests (Prothrombin time (PT), APTT, Fibrinogen, Thrombin Time) are lyophilized according to the experimental procedure. 120 vials of 1mL volume are produced per lot. The final product is assessed for residual moisture levels, ice crystals size, dried cake layer, sterility, homogeneity, and the rate of difference between before and after lyophilization. The research product has good dried cake layer, small ice crystals and has good homogeneity after reconstitution. The residual moisture levels are lower than 2% and all coagulation parameters are homogeneous. The percentages of the difference between before and after lyophilizing of PT, APTT, Fibrinogen and Thrombin are lower than 9.1%.

Keywords: Lyophilization, coagulation, Virtis Advantage Pro of SP Scientific, quality control