

kích thước lớn khi được phát hiện. U diệp thể lành tính có tỉ lệ tái phát thấp hơn so với u diệp thể ranh giới và ác tính, vì vậy việc điều trị u diệp thể lành tính có thể không nhất thiết cắt bỏ rộng cách rìa khối u trên 1 cm. Và việc chẩn đoán u diệp thể lành tính sau khi loại bỏ bằng phẫu thuật hoặc hút chân không có thể không yêu cầu phẫu thuật lại. Hiện nay cắt bỏ có hỗ trợ chân không dưới hướng dẫn siêu âm để điều trị u diệp thể lành tính đang ngày càng được áp dụng tại nhiều cơ sở với các khối u có kích thước dưới 4 cm. Đây cũng là một kỹ thuật triển vọng có thể sử dụng trong loại bỏ u diệp thể lành tính kích thước lớn với hiệu quả cao về mặt thẩm mỹ, tuy nhiên cần được nghiên cứu và đánh giá thêm về khả năng tái phát tại chỗ sau can thiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Zhang Y, Kleer CG.** Phyllodes Tumor of the Breast: Histopathologic Features, Differential Diagnosis, and Molecular/Genetic Updates. Arch Pathol Lab Med. 2016;140(7):665-671. doi:10.5858/arpa.2016-0042-RA
- Limaïem F, Kashyap S.** Phyllodes Tumor Of The Breast. In: StatPearls. StatPearls Publishing; 2023. Accessed May 21, 2023. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541138/>
- Qian Y, Quan ML, Ogilvi T, Bouchard-Fortier A.** Surgical management of benign phyllodes tumours of the breast: Is wide local excision really necessary? Can J Surg. 2018;61(6):430-431. doi:10.1503/cjs.017617
- Borhani-Khomani K, Talman MLM, Kroman N, Tvedskov TF.** Risk of Local Recurrence of Benign and Borderline Phyllodes Tumors: A Danish Population-Based Retrospective Study. Ann Surg Oncol. 2016;23(5):1543-1548. doi:10.1245/s10434-015-5041-y
- Park HL, Pyo YC, Kim KY, et al.** Recurrence Rates and Characteristics of Phyllodes Tumors Diagnosed by Ultrasound-guided Vacuum-assisted Breast Biopsy (VABB). Anticancer Res. 2018;38(9):5481-5487. doi:10.21873/anticancer.12881
- Ji Y, Zhong Y, Zheng Y, et al.** Surgical management and prognosis of phyllodes tumors of the breast. Gland Surg. 2022;11(6):981-991. doi:10.21037/gst-21-877
- Tse GMK, Niu Y, Shi HJ.** Phyllodes tumor of the breast: an update. Breast Cancer. 2010;17(1):29-34. doi:10.1007/s12282-009-0114-z
- Guillot E, Couturaud B, Reyat F, et al.** Management of phyllodes breast tumors. Breast J. 2011;17(2):129-137. doi: 10.1111/j.1524-4741.2010.01045.x
- Wiratkapun C, Piyapan P, Lertsithichai P, Larbcharoensub N.** Fibroadenoma versus phyllodes tumor: distinguishing factors in patients diagnosed with fibroepithelial lesions after a core needle biopsy. Diagn Interv Radiol. 2014;20(1):27-33. doi:10.5152/dir.2013.13133
- Jacklin RK, Ridgway PF, Ziprin P, Healy V, Hadjiminias D, Darzi A.** Optimising preoperative diagnosis in phyllodes tumour of the breast. Journal of Clinical Pathology. 2006;59(5):454-459. doi:10.1136/jcp.2005.025866

SỬ DỤNG PHƯƠNG PHÁP ĐO QUANG ĐỂ XÁC ĐỊNH GIÁ TRỊ ẮN ĐỊNH CỦA MẪU SINH PHẨM HUYẾT HỌC TRONG KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC

Võ Ngọc Nguyên^{1,2,3}, Trần Hữu Tâm³, Nguyễn Thị Hồng Phương³,
Vũ Đình Dũng³, Thái Mỹ Trân³, Nguyễn Thúy Hương^{1,2}

TÓM TẮT

Nghiên cứu độ ổn định số lượng tế bào máu (hồng cầu người, bạch cầu, tiểu cầu già lập) trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm huyết học là rất cần thiết cho các phòng xét nghiệm huyết học tại Việt Nam. Trong nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu xác định giá trị ắn định số lượng tế bào máu bằng phương pháp đo quang. Mẫu tổ hợp tế bào máu ở 3 mức nồng độ (cao, bình thường, thấp) bằng công thức tối ưu

hóa môi trường bảo quản ở từng mức nồng độ. Xác định giá trị ắn định (trung bình \pm 2SD) của dòng máy phân tích huyết học bằng phương pháp đo quang trên máy Celdyn 3200, Celdyn Ruby, mẫu sẽ được gửi tới 10 phòng xét nghiệm khác nhau sử dụng dòng máy Celdyn 3200, Celdyn Ruby để đánh giá. Kết quả nghiên cứu đã xác định giá trị ắn định của dòng máy Celdyn 3200, Celdyn Ruby ở 3 mức nồng độ: dòng máy Celdyn 3200 có 80%, Celdyn Ruby có 90% phòng xét nghiệm có kết quả phân tích nằm trong giá trị ắn định. Kết quả đo số lượng hồng cầu, bạch cầu già lập và tiểu cầu già lập trên từng thiết bị phân tích giữa 10 phòng xét nghiệm là tương đương nhau, cùng một mức nồng độ thì dòng máy Celdyn 3200, Celdyn Ruby sẽ cho kết quả bạch cầu già lập và hồng cầu tương đương nhau, chỉ có chỉ số tiểu cầu già lập là khác nhau và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Như vậy, mẫu sinh phẩm huyết học đạt tiêu chuẩn để có thể được sử dụng để đánh giá kết quả

¹Trường Đại học Bách Khoa TP. HCM

²Đại học Quốc gia TP. HCM

³Trung tâm Kiểm chuẩn Xét nghiệm TP.HCM

Chịu trách nhiệm chính: Võ Ngọc Nguyên

Email: vnnguyen.sdh20@hcmut.edu.vn

Ngày nhận bài: 8.2.2024

Ngày phản biện khoa học: 22.3.2024

Ngày duyệt bài: 25.4.2024

của các phòng xét nghiệm có sử dụng dòng máy đo quang là: Celldyn 3200, Celldyn Ruby.

Từ khóa: ngoại kiểm tra, nội kiểm tra, mẫu kiểm chuẩn huyết học, hồng cầu người, bạch cầu giả lập, tiểu cầu giả lập.

SUMMARY

USING THE OPTICAL METHOD TO DETERMINE THE ASSIGNED VALUE OF HEMATOLOGY REFERENCE SAMPLES IN QUALITY CONTROL OF HEMATOLOGY TESTS

Researching the stability of blood cell counts (human red blood cells, pseudo-leucocytes, pseudo-platelets) used to implement an external quality assessment (EQA) to check the quality of hematology tests are necessary for hematology laboratories in Vietnam. In this research, the research team determined the assessment value of blood cell count (human RBCs, pseudo-leucocytes, and pseudo-platelets) by the optical method used in hematology EQA programs. This Hematological reference sample is controlled at 3 levels of low, normal and high concentrations. Determine the assigned value (mean \pm 2SD) of the hematology analyzer line by photometric method on the Celldyn 3200, Celldyn Ruby, samples will be sent to 10 different laboratories using the Celldyn 3200 series, Celldyn Ruby for review. Research results have determined the assigned value of the Celldyn 3200 and Celldyn Ruby series at 3 concentration levels: the Celldyn 3200 series has 80%, the Celldyn Ruby has 90% of laboratories with analytical results within the price range. fixed value. The results of measuring the number of human RBCs, pseudo-leucocytes, and pseudo-platelets on each analytical device among 10 laboratories are equivalent, with the same concentration level, the Celldyn 3200 and Celldyn Ruby models will give simulated white blood cell results. and red blood cells are similar, only the simulated platelet index is different and this difference is statistically significant ($p < 0.05$). Thus, hematological reference samples measuring the number of blood cell meet the standards so that they can evaluate the results of laboratories using the optical method: Celldyn 3200, Celldyn Ruby.

Keywords: External quality control (EQA), Internal quality control (IQC), hematological reference samples, human RBCs, pseudo-leucocytes, pseudo-platelets.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xét nghiệm huyết học góp phần rất lớn vào việc chẩn đoán và điều trị một số bệnh về máu. Vì vậy, kết quả xét nghiệm huyết học đòi hỏi phải có độ tin cậy cao, được kiểm soát chất lượng bằng công cụ như nội kiểm, ngoại kiểm [1-3]. Ở Việt Nam hiện chưa có mẫu kiểm chuẩn để thiết kế phù hợp bệnh cảnh của các phòng xét nghiệm, toàn bộ mẫu kiểm chuẩn được nhập khẩu từ nước ngoài. Chính vì vậy việc nghiên cứu sản xuất mẫu sinh phẩm huyết học giúp cho các phòng xét nghiệm ở Việt Nam chủ động được nguồn mẫu và giảm chi phí mua mẫu. Các

nghiên cứu trước, chúng tôi đã cố định được hồng cầu người; dùng hồng cầu ngỗng, dê để thay thế bạch cầu, tiểu cầu người. Sử dụng thiết kế Plackett-Burman, phương pháp RSM-CCD để sàng lọc, tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng, kết quả đã xác định các công thức tối ưu cho môi trường bảo quản tế bào máu [4]. Đồng thời, đánh giá mô hình bằng thực nghiệm đã xác định mẫu ổn định trong thời gian 3 tháng, ở nhiệt độ 2-8°C ở điều kiện phòng thí nghiệm và điều kiện vận chuyển. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện xác định ngưỡng giá trị của 3 mức nồng độ cao, bình thường, thấp trong phân tích huyết học, đồng thời xác định giá trị ấn định và đánh giá giá trị ấn định của các dòng máy xét nghiệm huyết học bằng phương pháp đo quang trên máy Celldyn 3200, Celldyn Ruby.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Khối hồng cầu (ngân hàng máu của bệnh viện Truyền máu Huyết học TP.HCM).

- Máu ngỗng (*Anser cygnoides*) 5-6 tháng tuổi được sử dụng để chế tạo mẫu bạch cầu giả định do hồng cầu ngỗng có kích thước tương tự bạch cầu người và là tế bào có nhân.

- Máu dê (*Capra aegagrus hircus*) 3-4 tháng tuổi được sử dụng để chế tạo mẫu tiểu cầu giả định do hồng cầu dê có kích thước tương tự tiểu cầu người.

- Chất kháng khuẩn, kháng nấm: Neomycin sulfate, Chloramphenicol, sodium azide, các dung môi ổn định tế bào máu. Chất cố định tế bào: glycerol, ethylene glycol, formaldehyde và glutaraldehyde. Tất cả hóa chất từ hãng Sigma-Aldrich (Mỹ)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định giá trị ấn định. Giá trị ấn định của TBHC, TBBC, TBTC trong mẫu sinh phẩm huyết học được xác định dựa vào kết quả của các PXN tham chiếu [5]. Các PXN tham chiếu là những PXN đạt các tiêu chuẩn chất lượng (ISO 15189, ISO 13485,...), có kết quả EQA huyết học với bộ mẫu thương mại tốt trong 2 năm gần nhất, đồng thời sử dụng dòng máy mà nghiên cứu đang thực hiện đại diện cho phương pháp đo quang. Mỗi bộ mẫu được gửi đồng thời đến 10 phòng xét nghiệm khác có sử dụng dòng máy CD 3200, CD Ruby để tiến hành kiểm tra, kết quả gửi về để phân tích và xác định giá trị ấn định cho 2 thiết bị trên. Giá trị ấn định là giá trị trung bình của PXN tham chiếu $\pm 2 \times$ độ lệch chuẩn (2 SD).

2.2.2. Đánh giá giá trị ấn định

Phương thức gửi mẫu: Mỗi đơn vị sẽ nhận 1 bộ mẫu riêng biệt với 3 mức nồng độ khác nhau (mỗi bộ mẫu gồm 3 lọ) trong điều kiện vận chuyển ở nhiệt độ lạnh (2°C – 8°C) và phòng thí nghiệm sẽ gửi lại phiếu trả lời kết quả (kết quả bao gồm 3 thông số ở 3 mức nồng độ khác nhau) theo đường bưu điện. Việc gửi mẫu và trả kết quả của PXN được bảo mật thông tin.

Kết quả gửi về được xử lý bằng phần mềm Excell và đánh giá bằng biểu đồ Levey-Jennings [6]. Biểu đồ này sẽ thể hiện sự biến thiên của từng chỉ số hồng cầu, bạch cầu giả lập và tiểu cầu giả lập quanh giá trị ấn định theo từng dòng máy.

2.2.3. Đánh giá kết quả giữa các phòng xét nghiệm. Giả thuyết H₀ đặt ra là: kết quả số lượng các tế bào máu của các phòng xét nghiệm trên từng thiết bị phân tích là tương đương nhau

(giả thuyết H₀ theo hàng) và kết quả phân tích số lượng các tế bào máu trên các thiết bị khác nhau là giống nhau (giả thuyết H₀ theo cột). Nếu F₁ (theo hàng) < F_{k-1, (k-1)(h-1), α} và F₂ (theo cột) < F_{h-1, (k-1)(h-1), α} thì chấp nhận giả thuyết H₀, ngược lại thì bác bỏ giả thuyết H₀.

Phương pháp thống kê: Tính toán số liệu dựa trên phần mềm Excel 2010; two-way ANOVA.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xác định giá trị ấn định

Dòng máy Celldyn 3200. Kết quả phân tích thống kê từ phần mềm Excel xác định khoảng giá trị các TBHC người, TBBC giả lập và TBTC giả lập đối với thiết bị phân tích Celldyn 3200 lần lượt tương ứng như sau:

Bảng 1. Kết quả giá trị ấn định của dòng máy Celldyn 3200 (n=10)

	HH1			HH2			HH3		
	TBBC (10 ⁹ /L)	TBHC (10 ¹² /L)	TBTC (10 ⁹ /L)	TBBC (10 ⁹ /L)	TBHC (10 ¹² /L)	TBTC (10 ⁹ /L)	TBBC (10 ⁹ /L)	TBHC (10 ¹² /L)	TBTC (10 ⁹ /L)
Trung bình (X)	3,76	3,39	95,00	8,17	5,42	155,00	23,72	5,64	426,00
Độ lệch chuẩn (SD)	0,24	0,17	2,85	0,40	0,23	3,33	1,56	0,28	4,32
Hệ số biến thiên	6,48	4,96	3,02	4,84	4,28	2,15	6,57	4,91	1,02
X ± SD	3,76±0,24	3,39±0,17	95,00±2,85	8,17±0,40	5,42±0,23	155,00±3,33	23,72±1,56	5,64±0,28	426,00±4,32
X ± 2SD	3,76±0,48	3,39±0,34	95,00±5,70	8,17±0,80	5,42±0,46	155,00±6,66	23,72±3,12	5,64±0,56	426,00±8,64

Kết quả phân tích thống kê từ phần mềm Excel xác định khoảng giá trị các TBHC người, TBBC giả lập và TBTC giả lập đối với thiết bị phân tích CD 3200 lần lượt tương ứng như sau:

- Đối với mẫu nồng độ thấp, khoảng giá trị ấn định số lượng TBHC người (giá trị bình thường ± 2 SD) là 3,39 ± 0,34 x 10¹² /L, TBBC giả lập là 3,76 ± 0,48 x 10⁹ /L và TBTC giả lập là 94 ± 5,70 x 10⁹ /L.

- Đối với mẫu nồng độ bình thường, khoảng giá trị ấn định số lượng TBHC người là 5,42 ±

0,46 x 10¹² /L, TBBC giả lập là 8,17 ± 0,80 x 10⁹ /L và TBTC giả lập là 155 ± 6,66 x 10⁹ /L.

- Đối với mẫu nồng độ cao, khoảng giá trị ấn định số lượng TBHC người là 5,64 ± 0,56 x 10¹² /L, TBBC giả lập là 23,72 ± 3,12 x 10⁹ /L và TBTC giả lập là 426 ± 8,64 x 10⁹ /L.

Dòng máy Celldyn Ruby. Kết quả phân tích thống kê từ phần mềm Excel xác định khoảng giá trị các TBHC người, TBBC giả lập và TBTC giả lập đối với thiết bị phân tích Celldyn Ruby lần lượt tương ứng như sau:

Bảng 2. Kết quả giá trị ấn định của dòng máy Celldyn Ruby (n=10)

	HH1			HH2			HH3		
	TBBC (10 ⁹ /L)	TBHC (10 ¹² /L)	TBTC (10 ⁹ /L)	TBBC (10 ⁹ /L)	TBHC (10 ¹² /L)	TBTC (10 ⁹ /L)	TBBC (10 ⁹ /L)	TBHC (10 ¹² /L)	TBTC (10 ⁹ /L)
Trung bình (X)	3,82	3,10	147,00	7,99	5,25	246,00	22,55	5,80	669,00
Độ lệch chuẩn (SD)	0,20	0,06	3,00	0,35	0,24	4,42	1,11	0,36	4,47
Hệ số biến thiên	5,23	2,02	2,04	4,36	4,59	1,80	4,92	6,19	0,67
X ± SD	3,82±0,20	3,10±0,06	147,00±3,00	7,99±0,35	5,25±0,24	246,00±4,42	22,55±1,11	5,80±0,36	669,00±4,47
X ± 2SD	3,82±0,40	3,10±0,12	147,00±6,00	7,99±0,70	5,25±0,48	246,00±4,42	22,55±2,22	5,80±0,72	669,00±8,94

Kết quả phân tích thống kê từ phần mềm Excel xác định khoảng giá trị các TBHC người, TBBC giả lập và TBTC giả lập đối với thiết bị phân

tích Celldyn Ruby lần lượt tương ứng như sau:

- Đối với mẫu nồng độ thấp, khoảng giá trị ấn định số lượng TBHC người (giá trị bình

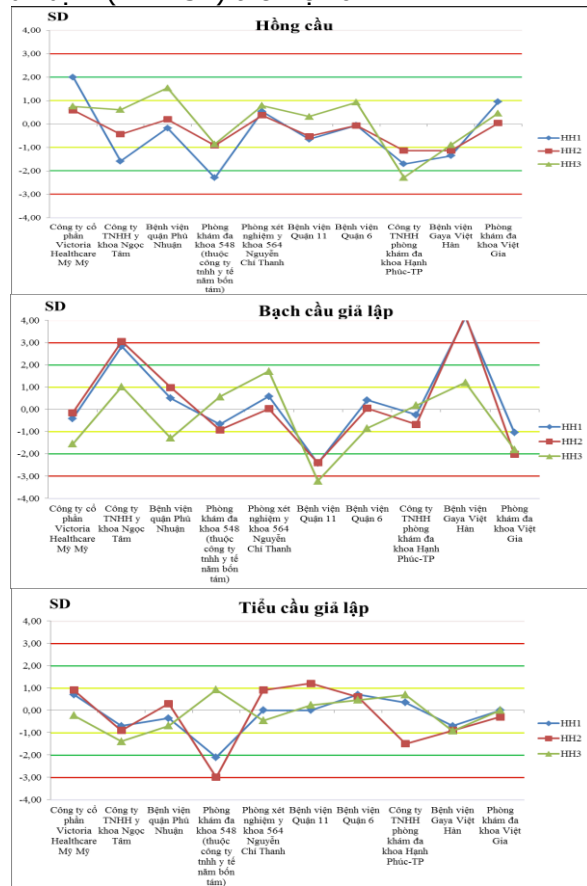
thường $\pm 2SD$) là $3,10 \pm 0,12 \times 10^{12} /L$, TBBC giả lập là $3,82 \pm 0,40 \times 10^9 /L$ và TBTC giả lập là $147 \pm 6,00 \times 10^9 /L$.

- Đối với mẫu nồng độ bình thường, khoảng giá trị ấn định số lượng TBHC người là $5,25 \pm 0,48 \times 10^{12} /L$, TBBC giả lập là $7,99 \pm 0,70 \times 10^9 /L$ và TBTC giả lập là $246 \pm 8,83 \times 10^9 /L$.

- Đối với mẫu nồng độ cao, khoảng giá trị ấn định số lượng TBHC người là $5,80 \pm 0,72 \times 10^{12} /L$, TBBC giả lập là $22,55 \pm 2,22 \times 10^9 /L$ và TBTC giả lập là $669 \pm 8,94 \times 10^9 /L$.

3.2. Đánh giá giá trị ấn định

Dòng máy Celldyn 3200: Sau khi đã xác định giá trị ấn định của từng dòng máy, mẫu tổ hợp với các mức nồng độ khác nhau được gửi đến 10 phòng xét nghiệm chạy máy Celldyn 3200. Kết quả của 10 phòng xét nghiệm này được biểu diễn trên biểu đồ Levey-Jennings để đánh giá sự biến thiên của các giá trị TBHC người, TBBC giả lập và TBTC giả lập so với giá trị ấn định ($X \pm 2SD$) thể hiện ở hình 1:

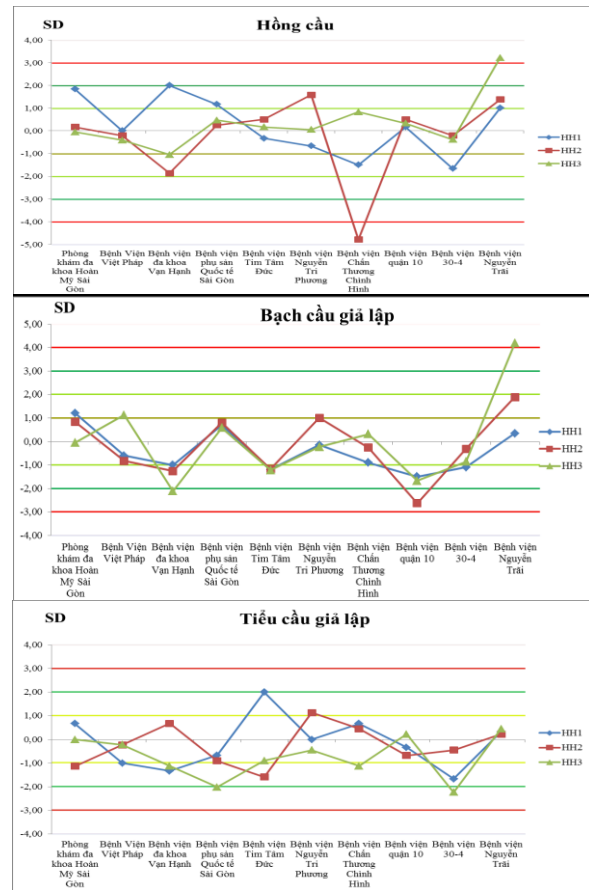


Hình 1. Biểu đồ Levey-Jennings của 10 PXN chạy máy Celldyn 3200

Ở mức nồng độ thấp có 1 giá trị TBBC giả lập, 1 TBHC người, mức nồng độ bình thường có

2 giá trị TBBC giả lập, 2 giá trị TBHC người, 1 giá trị TBTC giả lập nằm ngoài khoảng giá trị ấn định $X \pm 2SD$ và các sai lệch này nằm ở các PXN khác nhau, còn ở mức nồng độ cao cả 3 giá trị số lượng tế bào máu đều đạt. Số lượng các PXN có chỉ số không đạt chiếm 1 tỷ lệ rất ít là 2/10 PXN. Điều này chứng tỏ, giá trị ấn định và kết quả của các PXN không có sự sai lệch nhiều. Như vậy, mẫu sinh phẩm huyết học đo số lượng TBHC người, TBBC giả lập, TBTC giả lập đạt tiêu chuẩn để có thể được sử dụng để đánh giá kết quả của các PXN có sử dụng thiết bị Celldyn 3200.

Dòng máy Celldyn Ruby. Kết quả của 10 phòng xét nghiệm này được biểu diễn trên biểu đồ Levey-Jennings để đánh giá sự biến thiên của các giá trị TBHC người, TBBC giả lập và TBTC giả lập so với giá trị ấn định ($X \pm 2SD$) thể hiện ở hình 2:



Hình 2. Biểu đồ Levey-Jennings của 10 PXN chạy máy Celldyn Ruby

Ở mức nồng độ bình thường có 1 giá trị TBBC giả lập, mức nồng độ cao có 1 giá trị TBTC giả lập nằm ngoài khoảng giá trị ấn định $X \pm 2SD$ và các sai lệch này nằm ở các PXN khác nhau, còn ở mức nồng độ thấp cả 3 giá trị số

lượng tế bào máu đều đạt. Số lượng các PXN có chỉ số không đạt chiếm 1 tỷ lệ rất ít là 1/10 PXN. Điều này chứng tỏ, giá trị ấn định và kết quả của các PXN không có sự sai lệch nhiều. Như vậy, mẫu sinh phẩm đo số lượng TBHC người, TBBC giả lập, TBTC giả lập đạt tiêu chuẩn để có thể được sử dụng để đánh giá kết quả của các PXN có sử dụng thiết bị Celldyn Ruby.

3.3. Đánh giá kết quả giữa các phòng xét nghiệm. Sử dụng phân tích two-way ANOVA (mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$) và phần mềm Excel để đánh giá kết quả giữa 10 phòng xét nghiệm trên mỗi loại thiết bị phân tích đo quang và giữa các thiết bị phân tích khác nhau ở cùng một mức nồng độ có đồng nhất hay không. Kết quả phân tích thống kê như sau:

Kết quả số lượng TBHC người, TBBC giả lập, TBTC giả lập giữa các PXN là tương đương nhau, kết quả của 2 thiết bị phân tích đo quang khác nhau ở chỉ số TBTC giả lập và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), còn chỉ số TBBC giả lập và TBHC người thì tương đương nhau.

Mức nồng độ bình thường:

- TBBC giả lập $F_1 = 0,84 < F_{9, 9, 0.05} = 3,18$; $F_2 = 0,91 < F_{1, 9, 0.05} = 5,12$.

- TBHC người $F_1 = 0,72 < F_{9, 9, 0.05} = 3,18$, $F_2 = 0,29 < F_{1, 9, 0.05} = 5,12$.

- TBTC giả lập $F_1 = 1,81 < F_{9, 9, 0.05} = 3,18$, $F_2 = 3410,01 > F_{1, 9, 0.05} = 5,12$.

Kết quả này tương tự với mẫu có nồng độ thấp. Kết quả thống kê cho thấy số lượng TBHC người, TBBC giả lập, TBTC giả lập giữa các PXN là tương đương nhau, kết quả của 2 thiết bị phân tích đo quang khác nhau ở chỉ số TBTC giả lập và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), còn chỉ số TBBC giả lập và TBHC người thì tương đương nhau.

Mức nồng độ cao:

- Bạch cầu $F_1 = 0,49 < F_{9, 9, 0.05} = 3,18$, $F_2 = 0,91 < F_{1, 9, 0.05} = 5,12$.

- Hồng cầu $F_1 = 0,88 < F_{9, 9, 0.05} = 3,18$, $F_2 = 1,92 < F_{1, 9, 0.05} = 5,12$.

- Tiểu cầu $F_1 = 1,07 < F_{9, 9, 0.05} = 3,18$, $F_2 = 22391,07 > F_{1, 9, 0.05} = 5,12$.

Tương tự, kết quả số lượng TBHC người, TBBC giả lập, TBTC giả lập giữa các PXN là tương đương nhau, kết quả của 2 thiết bị phân tích đo quang khác nhau ở chỉ số TBTC giả lập và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), còn chỉ số TBBC giả lập và TBHC người thì tương đương nhau.

Như vậy, kết quả số lượng các tế bào máu ở 10 PXN khác nhau ở các thiết bị phân tích khác nhau thì tương đương nhau, tuy nhiên với cùng

một mức nồng độ thì các thiết bị khác nhau (CD 3200, CD Ruby) sẽ cho kết quả TBBC giả lập và TBHC người tương đương nhau, chỉ có chỉ số TBTC là khác nhau.

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu đánh giá kết quả ngoại kiểm của phòng xét nghiệm dựa trên các chỉ số thống kê và các biểu đồ. Đối với chương trình ngoại kiểm tra huyết học, các phòng xét nghiệm được chia thành từng nhóm có cùng phương pháp và thiết bị. Hiện nay, các thiết bị huyết học phân tích mẫu dựa trên 2 nguyên lý là đo quang và đo điện trở kháng. Các thiết bị đo quang đo hình dạng các tế bào máu bằng cách đo góc tán xạ ánh sáng. Biểu đồ Levey-Jenning là công cụ trực quan để đánh giá sự sai lệch của các kết quả phân tích so với giá đích. Các kết quả phân tích được xem là chấp nhận khi nằm trong khoảng giá trị bình thường của giá trị ấn định ± 2 SD. Kết quả phân tích trên 2 thiết bị kiểm tra là Celldyn Ruby, Celldyn 3200 cho thấy các kết quả sai lệch của TBBC giả lập, TBHC người, TBTC giả lập chủ yếu là ở nồng độ cao và bình thường, sai lệch này có thể do nhiều nguyên nhân. Nguyên nhân đầu tiên là do thao tác của kỹ thuật viên xét nghiệm không trộn đều mẫu, mẫu nồng độ cao và bình thường cần phải được trộn đều nhiều lần hơn. Nguyên nhân thứ hai là do thiết bị phân tích huyết học không được vệ sinh, bảo trì, bảo dưỡng và hiệu chuẩn định kỳ. Trước khi phân tích mẫu ngoại kiểm tra và mẫu bệnh phẩm, các thiết bị này cần phải chạy mẫu nội kiểm tra. Khi kết quả mẫu nội kiểm tra không đạt cần phải hiệu chuẩn lại máy bằng mẫu hiệu chuẩn (calibration). Do đó, để đảm bảo kết quả phân tích chương trình ngoại kiểm tra không bị sai lệch phòng xét nghiệm cần phải thực hiện bảo trì, bảo dưỡng và hiệu chuẩn máy định kỳ. Nguyên nhân thứ ba là do mẫu không được bảo quản đúng nhiệt độ làm cho các tế bào máu bị biến tính trước khi thực hiện phân tích. Việc phân tích kết quả ngoại kiểm tra sẽ giúp các phòng xét nghiệm nhận biết được sai số nằm ở giai đoạn nào và có các biện pháp khắc phục kịp thời.

V. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã xác định định giá trị ấn định của từng dòng máy Celldyn 3200, Celldyn Ruby ở 3 mức nồng độ cao, bình thường, thấp. Celldyn 3200 có 80% phòng xét nghiệm có kết quả phân tích nằm trong khoảng giá trị ấn định ± 2 SD. Dòng máy Celldyn Ruby có 90% phòng xét nghiệm có kết quả phân tích nằm trong giá trị ấn định. Kết quả đo số lượng TBHC

người, TBBC giả lập và TBTC giả lập trên từng thiết bị phân tích giữa 10 phòng xét nghiệm là tương đương nhau, cùng một mức nồng độ thì thiết bị Celldyn 3200, Celldyn Ruby sẽ cho kết quả TBBC giả lập và TBHC người tương đương nhau, chỉ có chỉ số TBTC là khác nhau. và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Như vậy, mẫu sinh phẩm đo số lượng tế bào máu đạt tiêu chuẩn để có thể được sử dụng để đánh giá kết quả của các phòng xét nghiệm có sử dụng dòng máy đo quang là Celldyn 3200, Celldyn Ruby.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Whitehead, T.; Woodford, F.** External quality assessment of clinical laboratories in the United Kingdom. *J. Clin. Pathol.* 1981, 34, 947-957.
2. **Sciacovelli, L.; Secchiero, S.; Zardo, L.; Zaninotto, M.; Plebani, M.** External quality assessment: an effective tool for clinical governance in laboratory medicine. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2006, 44, 740-749.
3. **Sciacovelli, L.; Secchiero, S.; Zardo, L.; Plebani, M.** The role of the external quality assessment. *Biochem. Med.* 2010, 20, 160-164.
4. **Vo, N.N.; Tran, H.T.; Truong, Q.T.; Nguyen, T.H.** Optimization of Storage Medium for Hematological Reference Samples in External Quality Assessment. *Appl. Sci.* 2021, 11, 8777. <https://doi.org/10.3390/app11188777>.
5. **Miller, W.G.**, Specimen materials, target values and commutability for external quality assessment (proficiency testing) schemes. *Clinica Chimica Acta*, 2003. 327(1): p. 25-37.
6. **Westgard J.O.** Basic QC practices, 4th ed.; Westgard QC Inc., USA, 2016.

TẠO DÒNG VÀ BIỂU HIỆN INTERLEUKIN-33 NGƯỜI DUNG HỢP VỚI SUMO TRÊN ESCHERICHIA COLI

Nguyễn Quốc Thái¹, Nguyễn Thanh Hoài Phong¹,
Mai Thành Tấn¹, Mai Huỳnh Như¹, Thái Khắc Minh¹

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Các nghiên cứu gần đây cho thấy interleukin (IL)-33 và thụ thể đóng vai trò quan trọng trong các bệnh lý viêm, nhiễm trùng và tự miễn. Tuy nhiên, việc chiết xuất IL-33 trực tiếp từ các mô gặp nhiều khó khăn và lượng protein chiết được rất thấp gây trở ngại cho nghiên cứu phát triển thuốc ức chế cytokin này. **Mục đích:** tạo được IL-33 người tái tổ hợp dạng dung hợp với tag SUMO trên Escherichia coli. **Phương pháp:** gen mã hoá cho IL-33 người được tối ưu hóa codon cho biểu hiện trên E. coli bằng phần mềm OptimumGene™ Optimization Analysis của công ty GeneScript. Plasmid pET-SUMO-il33 được biến nạp vào E. coli BL21(DE3) bằng phương pháp sốc nhiệt. **Kết quả:** Plasmid tái tổ hợp chứa gen il33 được thiết kế gắn tag gồm 8×His và SUMO tag ở đầu N tận với gen il33 được tối ưu hoá codon cho biểu hiện trên E. coli. Tế bào E. coli BL21(DE3) mang pET-SUMO-il33 có khả năng biểu hiện IL-33 tái tổ hợp dưới dạng tan trong môi trường LB ở 37 °C. **Kết luận:** Nghiên cứu đã tạo dòng thành công chủng E. coli BL21(DE3) mang plasmid tái tổ hợp pET-SUMO-il33 có khả năng tạo IL-33 tan ở dạng dung hợp với tag SUMO với hiệu suất cao.

Từ khoá: interleukin-33 người tái tổ hợp, tối ưu hoá codon, pET-SUMO, E. coli

SUMMARY

EXPRESSION OF HUMAN INTERLEUKIN-33 FUSED WITH SUMO IN ESCHERICHIA COLI

Background: Recent studies showed that interleukin (IL)-33 and its receptor play an important role in inflammation, infection, and autoimmune diseases. Nevertheless, direct extractions of IL-33 from human tissues often resulted in limited amount of this cytokine, which may hinder the drug discovery process. **Objectives:** This study aims to express recombinant human IL-33 fused with SUMO in Escherichia coli. **Methods:** codons from human il33 gene was optimized for the expression in E. coli using OptimumGene™ Optimization Analysis (GeneScript). The recombinant plasmid pET-SUMO-il33 was transformed into chemically competent E. coli BL21 (DE3) by heat-shock method. **Results:** The recombinant plasmid was designed with a 8×His and a SUMO tag at the N-terminal of the codon-optimized il33 gene. The transformed E. coli BL21(DE3) could express soluble recombinant IL-33 in LB medium at 37°C. **Conclusion:** In this study, we have successfully transformed E. coli BL21(DE3) with the recombinant plasmid pET-SUMO-il33. The bacteria could express soluble SUMO-IL-33 with high yield.

Keywords: recombinant human interleukin-33, codon optimization, pET-SUMO, E. coli

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

IL-33 là một thành viên trong họ IL-1, có liên quan đến các miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch thu nhận thông qua tương tác với thụ thể ST2. IL-33 đóng vai trò bệnh lý trong các mô bị viêm

¹Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Quốc Thái

Email: ngqthai@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 8.2.2024

Ngày phản biện khoa học: 21.3.2024

Ngày duyệt bài: 24.4.2024