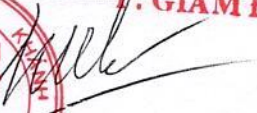


TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CĐHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	1/18

Người biên soạn	Người soát xét	Người phê duyệt
		  P. GIÁM ĐỐC
Trương Thị Lan Anh	Trương Thị Lan Anh	Nguyễn Đức Tình
Ngày 17 tháng 10 năm 2022	Ngày 17 tháng 10 năm 2022	Ngày 17 tháng 10 năm 2022

SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

Stt	Phiên bản số	Vị trí sửa đổi	Nội dung sửa đổi	Ngày xem xét/ sửa đổi	Người xem xét/ sửa đổi
01	02	5.2.4 phần A	Bổ sung một số bảng đánh giá	02/01/2018	Lan Anh
02	02	5.2.4 phần B2	Sửa đổi số lần thực hiện thí nghiệm	02/01/2018	Lan Anh
03	03	Trang 3 & 5	Sửa năm và điều khoản theo ISO/IEC 17025:2017. Bổ sung nội dung PDPP khi thay đổi Phương pháp đã PD.	22/01/2019	Lan Anh
04	04	Trang 1	Thay đổi người phê duyệt	17/10/2022	Lan Anh

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CĐHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	2/18

MỤC LỤC

1. MỤC ĐÍCH.....	3
2. PHẠM VI ÁP DỤNG.....	3
3. TÀI LIỆU LIÊN QUAN.....	3
4. ĐỊNH NGHĨA VÀ CHỮ VIẾT TẮT	3
4.1 Định nghĩa	3
4.2 Chữ viết tắt.....	4
5. NỘI DUNG	4
5.1 Tiêu chí lựa chọn phương pháp thử:	4
5.2 Hồ sơ lựa chọn phương pháp thử:	5
6. BIỂU MẪU/HỒ SƠ.....	18



TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CDHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	3/18

1. MỤC ĐÍCH

- Quy định nội dung và trách nhiệm của KXN trong quá trình lựa chọn và phê duyệt phương pháp đo thử nghiệm.
 - Đảm bảo KXN luôn luôn sử dụng phương pháp đo thích hợp và đáp ứng yêu cầu của khách hàng.
 - Quy định trách nhiệm và quyền hạn trong quá trình lựa chọn và phê duyệt phương pháp đo thử nghiệm.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Quy trình này được áp dụng trong hoạt động lựa chọn phê duyệt phương pháp thử nghiệm của KXN phù hợp yêu cầu tiêu chuẩn ISO/IEC 17025:2017.

3. TÀI LIỆU LIÊN QUAN

- Tiêu chuẩn ISO/IEC 17025:2017 mục 7.2.
- Sổ tay chất lượng KXN
- AGL 04: Yêu cầu bổ sung công nhận lĩnh vực Vi sinh;
- AGL 03: Yêu cầu bổ sung công nhận lĩnh vực Hóa PT;

4. ĐỊNH NGHĨA VÀ CHỮ VIẾT TẮT

4.1 Định nghĩa

- Phương pháp thử nghiệm/hiệu chuẩn là qui trình kỹ thuật xác định để thực hiện phép thử/hiệu chuẩn.
- Phương pháp tiêu chuẩn: được ban hành bởi các tổ chức tiêu chuẩn quốc gia hoặc quốc tế, khu vực, bộ ngành, hiệp hội khoa học kỹ thuật có uy tín.
- Phương pháp nội bộ: do KXN tự xây dựng và theo yêu cầu của khách hàng.
- Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp thử/hiệu chuẩn: là việc khẳng định bằng kiểm tra và cung cấp bằng chứng khách quan rằng các yêu cầu xác định cho việc sử dụng phương pháp thử/hiệu chuẩn cụ thể đã được thực hiện.
- Tính liên kết chuẩn – Tính chất của kết quả do hoặc giá trị của một chuẩn mà nhờ đó có thể liên hệ tới những chuẩn đã định, thường là chuẩn quốc gia hay chuẩn quốc tế, thông qua một chuỗi so sánh không gián đoạn với những độ không đảm bảo đã định.
- Độ không đảm bảo (của phép đo) - Thông số gắn với kết quả của phép đo, đặc trưng cho sự phân tán của các giá trị có thể quy cho đại lượng đo một cách hợp lý.

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CĐHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	4/18

4.2 Chữ viết tắt

- HTQL: Hệ thống quản lý;
- KXN: Khoa Xét nghiệm;
- QLKT: Quản lý kỹ thuật
- QLCL: Quản lý chất lượng
- KPH: Không phù hợp
- KPPN: Khắc phục phòng ngừa
- HĐKP: Hành động khắc phục
- HĐPN: Hành động phòng ngừa

5. NỘI DUNG

5.1 Tiêu chí lựa chọn phương pháp thử:

Các nguồn tài liệu để lựa chọn phương pháp thử:

- Phương pháp công bố dưới hình thức tiêu chuẩn quốc tế, tiêu chuẩn khu vực và tiêu chuẩn quốc gia (TCVN, ASTM, APHA, AOAC....).
- Phương pháp do các tổ chức kỹ thuật, nhà sản xuất thiết bị ban hành.
- Phương pháp nội bộ do KXN tự xây dựng

Các bước lựa chọn phương pháp thử:

- a) Căn cứ vào nhu cầu của các bên liên quan và khả năng của KXN, cán bộ chuyên môn xác định danh mục các phương pháp thử ứng với từng chỉ tiêu ứng với từng loại mẫu thử nghiệm/phân tích..
- b) Thu thập các tài liệu có phiên bản hiệu lực mới nhất liên quan đến phương pháp áp dụng như TCVN, ASTM, APHA, AOAC...tất cả các phương pháp thử phải sẵn có, tiện cho thí nghiệm viên sử dụng.
- c) Trước khi đưa vào sử dụng, KXN tiến hành đánh giá sự phù hợp của phương pháp so với năng lực của KXN cũng như sự phù hợp với yêu cầu của các bên liên quan (đánh giá điều kiện cơ bản của từng phương pháp thử).
- d) Quyết định lựa chọn phương pháp dưới hình thức tiêu chuẩn quốc tế, tiêu chuẩn khu vực và tiêu chuẩn quốc gia hoặc giao nhiệm vụ xây dựng phương pháp nội bộ .
- e) Trao đổi với các bên liên quan về việc sử dụng phương pháp thử, nếu có sự sai lệch so với thỏa thuận ban đầu cần thông báo cho bên gửi mẫu và được sự đồng ý của bên gửi mẫu.

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CĐHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	5/18

5.2 Hồ sơ lựa chọn phương pháp thử:

5.2.1 Phương pháp tiêu chuẩn:

- Khi chọn các phương pháp thử theo tiêu chuẩn quốc gia, quốc tế, như TCVN, ASTM, APHA, AOAC...KXN cần phải đánh giá điều kiện cơ bản – sự phù hợp của nguồn lực KXN so với yêu cầu của phương pháp thử và việc đạt được kết quả thử nghiệm có độ chính xác như phương pháp yêu cầu hoặc như mong muốn của KXN.
 - o Với mỗi phương pháp tiêu chuẩn, KXN lập biên bản đánh giá điều kiện cơ bản của phương pháp theo BM-QLCL-15-01.
 - o Với mỗi phương pháp tiêu chuẩn, KXN phải thẩm định/xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp theo thủ tục xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp và lập hồ sơ lưu các bằng chứng đã thực hiện như Kế hoạch xác nhận theo BM-QLCL-15-02 ,báo cáo kết quả xác nhận theo BM-QLCL-15-03.
 - o Đối với các phương pháp thử đã ban hành mà không có dữ liệu về độ chính xác thì KXN phải xác định dữ liệu độ chính xác của phép thử dựa trên dữ liệu nghiên cứu về độ chính xác của phương pháp (cách tính độ chụm, độ chệch của phương pháp theo QTQL-16).
- Khi thay đổi về phạm vi phương pháp, hóa chất, thiết bị... phải kiểm tra đánh giá lại giá trị sử dụng của phương pháp.

5.2.2 Phương pháp nội bộ:

5.2.2.1 Xây dựng phương pháp thử nội bộ.

Các hoạt động sau đây phải được tiến hành khi xây dựng phương pháp thử nội bộ:

- Lập kế hoạch trình Giám đốc phê duyệt. Kế hoạch phải nêu ra được sự cần thiết phải xây dựng phương pháp, nội dung và thời gian tiến hành, hóa chất, thuốc thử, nhân lực, dự kiến chi phí tiêu tốn.
- Người chủ trì xây dựng tập hợp tất cả các tài liệu có liên quan, tiến hành các bước theo kế hoạch đã được phê duyệt, thông báo thường xuyên với Trưởng khoa xét nghiệm/GĐ Trung tâm tiến độ thực hiện để có sự điều chỉnh kế hoạch nếu cần.

5.2.2.2 Nội dung phương pháp thử nội bộ:

Các nội dung cần có trong phương pháp thử nội bộ:

- Mục đích và Phạm vi áp dụng

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CDHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	6/18

- Tiêu chuẩn, tài liệu tham chiếu.
- Nguyên lý của phương pháp
- Thiết bị, hóa chất, dụng cụ (bao gồm cả các loại chủng chuẩn, mẫu chuẩn cần thiết).
- Tiến hành thử nghiệm/xét nghiệm: (gồm từ quá trình lấy mẫu, bảo quản, vận chuyển, lưu giữ, và chuẩn bị mẫu thử, thực hiện kiểm tra trước khi thực hiện công việc, các dữ liệu quan trắc và kết quả, các biện pháp đo an toàn cần chấp hành, các biểu mẫu sử dụng trong quá trình áp dụng phương pháp)
- Tính toán kết quả
- Độ chính xác của phương pháp
- Kỹ thuật an toàn

Trong mô tả cần chi tiết các hoạt động sau:

- Tiến hành thử nghiệm/xét nghiệm: quá trình chuẩn bị mẫu, nuôi cấy mẫu, pha chế dung dịch, chuẩn độ, đo, so sánh phân tích v.v...
- Tính kết quả: ghi công thức tính và cách báo kết quả.
- Đảm bảo chất lượng: ghi đầy đủ chi tiết như yêu cầu đảm bảo chất lượng.
- Chuẩn mực/ hoặc yêu cầu để phê duyệt hoặc bác bỏ phương pháp
- Độ không đảm bảo và phương pháp ước lượng độ không đảm bảo

5.2.2.3 Phê duyệt phương pháp thử nội bộ

- Các hoạt động sau đây phải được tiến hành khi phê duyệt phương pháp thử nội bộ:
- Chuẩn bị đầy đủ phương pháp thử, hóa chất, thuốc thử, thiết bị, dụng cụ và nhân viên có năng lực và kinh nghiệm để sẵn sàng thực hiện.
- Tùy thuộc vào từng phương pháp cụ thể, các thông số cần phê duyệt có thể thay đổi cho phù hợp.

Sử dụng một hoặc tập hợp các kỹ thuật sau đây để đánh giá.

- Thử nghiệm trên các mẫu đã được chứng nhận.
- Thử nghiệm lặp lại.
- Sử dụng mẫu chuẩn.
- So sánh kết quả thử nghiệm liên phòng.
- Đánh giá có hệ thống các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả.

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CĐHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	7/18

- Đánh giá độ không đảm bảo đo của kết quả dựa vào hiểu biết khoa học về nguyên tắc lý thuyết của phương pháp và kinh nghiệm thực tế theo thủ tục đánh giá độ không đảm bảo đo.

Việc lựa chọn thông số cần phê duyệt, kỹ thuật tiến hành phê duyệt..., được ghi chi tiết trong sổ tay hướng dẫn chung của từng bộ phận.

- Tiến hành phê duyệt phương pháp. Tất cả các số liệu thu được phải được văn bản hóa và lưu trữ thành văn bản.
- Lập báo cáo phê duyệt phương pháp. Trong đó công bố tính thích hợp của phương pháp đối với mục đích sử dụng.

5.2.3 Phương pháp không tiêu chuẩn có từ bên ngoài :

- Quy trình áp dụng đối với phương pháp không tiêu chuẩn tương tự như đối với phương pháp thử nội bộ, ngoại trừ không thực hiện mục 5.2.1.1.

5.2.4 Các thông số có thể xác định:

A. TRONG PHÂN TÍCH HÓA HỌC: Các thông số xác nhận thường bao gồm:

Tính đặc hiệu, Tính chọn lọc

Là khả năng phát hiện được chất phân tích khi có mặt các tạp chất khác như các tiền chất, các chất chuyển hóa, tạp chất.

Cách xác định:

- Phân tích các mẫu trắng, lặp lại tối thiểu 6 lần đối với từng loại nền mẫu. *Mẫu trắng phải không cho tín hiệu phân tích.*
- Phân tích các mẫu thêm chuẩn ở hàm lượng gần LOQ, lặp lại tối thiểu 6 lần đối với từng loại mẫu thêm. *Mẫu thêm phải cho tín hiệu phân tích.*

Chú thích: Áp dụng các thông số này để xác nhận khi mẫu phân tích khác với mẫu nền nêu trong phương pháp tiêu chuẩn.

Khoảng tuyến tính và đường chuẩn (linearity and Calibration curve)

Khoảng tuyến tính là khoảng nồng độ ở đó có sự phụ thuộc tuyến tính giữa đại lượng đo được và nồng độ.

Cách xác định:

- Chuẩn bị dãy nồng độ chuẩn (tối thiểu 6 nồng độ)
- Đo nồng độ của dung dịch chuẩn độ theo dãy nồng độ thay đổi

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CĐHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	8/18

- Vẽ đường cong phụ thuộc giữa kết quả đo được và nồng độ chất phân tích.
- Xác định khoảng tuyến tính
- Xây dựng đường chuẩn và hệ số hồi quy tương quan R

Trong khoảng tuyến tính của đường chuẩn với chất chuẩn tinh khiết, đường biểu diễn khoảng khảo sát tuyến tính bằng phương trình

$$y = ax + b$$

Trong đó a: giá trị độ dốc của đường chuẩn

b: giá trị hệ số chặn

Tính hệ số tương quan R:

$$R = \frac{\sum (x_i - \bar{X})(y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{X})^2 \sum (y_i - \bar{Y})^2}}$$

Trong đó: x_i là kết quả đo nồng độ theo dãy nồng độ thay đổi

- Giới hạn chấp nhận của đường chuẩn: $0,99 \leq R^2 \leq 1$

Trong đó R là hệ số tương quan hồi quy

Chú thích: Áp dụng đối với hầu hết các phương pháp phân tích định lượng.

Giới hạn phát hiện (limit of detection-LOD)

Là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện được

Cách xác định:

* LOD của phương pháp định tính

- Phân tích lặp trên các mẫu trắng thêm chuẩn ở các nồng độ nhỏ khác nhau 10 lần.
- Xác định tỷ lệ phần trăm số lần phát hiện (dương tính) hoặc không phát hiện được (âm tính)
- Kết luận Ví dụ: với nồng độ 100 ppm kết luận dương tính không còn chắc chắn 100%).

* LOD của phương pháp định lượng

Bước 1: làm trên mẫu trắng-xác định LOD ước lượng

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CĐHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	9/18

- Phân tích trên các mẫu trắng (mẫu trắng có thành phần như mẫu thử nhưng không có chứa chất cần phân tích); phân tích 10 lần.
- Xác định độ lệch chuẩn SD_0 của 10 lần phân tích; độ lệch chuẩn này phải khác 0. Tính giá trị trung bình của mẫu trắng X_0 .
- Tính $LOD = X_0 + 3SD_0$

Bước 2: làm trên mẫu thử

Có thể xác định LOD tương tự các bước như *trên* nhưng làm trên mẫu thử có nồng độ thấp trong khoảng 5-7 lần LOD ước lượng rồi tính:

$$SD = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (X_k - \bar{X})^2} \quad LOD = 3 \times SD$$

Độ chụm (Precision): độ lặp lại (repeatability) và độ tái lập (reproducibility)

Độ chụm (precision): độ chụm là thước đo của độ lặp lại và độ tái lập. Độ chụm được đánh giá thông qua các thông số đặc trưng của phương pháp phân tích: độ lệch chuẩn lặp lại S_r , độ lệch chuẩn tái lập S_R (ISO 3534-1).

+ **Độ lệch chuẩn lặp lại S_r** cho thấy khả năng nhận được các kết quả quan trắc tập trung xung quanh một giá trị trung bình sau khi thực hiện n phép thử **trong cùng một điều kiện, cùng một KXN, cùng một phương pháp, cùng một thiết bị, cùng một nhân viên trên cùng một mẫu thử.**

$$S_r = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (X_k - \bar{X})^2}$$

+ **Độ lệch chuẩn tái lập S_R** cho thấy khả năng nhận được các kết quả quan trắc tập trung xung quanh một giá trị trung bình sau khi thực hiện n phép thử **không trong cùng một điều kiện (khác KXN, phương pháp, thiết bị, nhân viên) trên cùng một mẫu thử.**

$$S_R = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (X_k - \bar{X})^2}$$

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CDHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	10/18

Bố trí thí nghiệm:

Mẫu phân tích có thể là mẫu chuẩn, hoặc mẫu trắng có thêm chuẩn, tốt nhất là làm trên mẫu thử hay mẫu thử thêm chuẩn. Tiến hành thí nghiệm lặp ít nhất 6 lần. Tính độ lệch chuẩn SD và độ lệch chuẩn tương đối RSD hay hệ số biến thiên CV theo công thức:

$$SD = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (X_k - \bar{X})^2} \quad RSD\% = CV\% = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

Tiêu chí đánh giá:

RSD% không được lớn hơn giá trị cho trong bảng ở hàm lượng chất tương ứng:

TT	Hàm lượng %	Tỷ lệ chất	Đơn vị	RSD%
1	100	1	100%	2
2	10	10^{-1}	10%	3
3	1	10^{-2}	1%	4
4	0.1	10^{-3}	0,1%	6
5	0.01	10^{-4}	100 ppm (mg/kg)	8
6	0.001	10^{-5}	10 ppm (mg/kg)	11
7	0.0001	10^{-6}	1 ppm (mg/kg)	16
8	0.00001	10^{-7}	100 ppb (µg/kg)	22
9	0.000001	10^{-8}	10 ppb (µg/kg)	32
10	0.0000001	10^{-9}	1 ppb (µg/kg)	45

Độ chệch (Bias)

- **Độ chệch:** Mức độ sai khác giữa giá trị trung bình của các kết quả thử nghiệm và giá trị quy chiếu được chấp nhận.

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CĐHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	11/18

- Độ chệch được xác định bằng cách so sánh giữa giá trị trung bình kết quả thu được từ phương pháp phân tích trên mẫu chuẩn (mẫu chuẩn chứng nhận) và giá trị quy chiếu của mẫu chuẩn được chấp nhận
- **Độ chệch phòng thí nghiệm (laboratory bias):** Mức độ sai khác giữa giá trị trung bình của các kết quả thử nghiệm tại một phòng thí nghiệm cụ thể và giá trị quy chiếu được chấp nhận.
- **Độ chệch phương pháp đo (bias of the measurement method):** Mức độ sai khác giữa giá trị trung bình của các kết quả thử nghiệm nhận được từ tất cả các phòng thí nghiệm sử dụng phương pháp đó và giá trị quy chiếu được chấp nhận.

Độ thu hồi (Recovery)

- Gọi C_{ob} là giá trị trung bình từ n lần thử nghiệm lặp lại trên một mẫu thêm hoặc mẫu chuẩn.
- Gọi C_{CRM} là giá trị của mẫu thêm hoặc mẫu chuẩn.
- Ta có độ thu hồi:

$$\overline{R}_m = \frac{\overline{C}_{obs}}{C_{CRM}}$$

Tính độ không đảm bảo đo từ các dữ liệu thực nghiệm trong phòng thí nghiệm (thí nghiệm đơn phòng)

*** Tiêu chí đánh giá :**

TT	Hàm lượng %	Tỷ lệ chất	Đơn vị	Giá trị thu hồi trung bình %
1	100	1	100%	98-102
2	10	10^{-1}	10%	
3	1	10^{-2}	1%	97-103

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CĐHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	12/18

4	0.1	10^{-3}	0,1%	95-105
5	0.01	10^{-4}	100 ppm (mg/kg)	90-107
6	0.001	10^{-5}	10 ppm (mg/kg)	80-110
7	0.0001	10^{-6}	1 ppm (mg/kg)	
8	0.00001	10^{-7}	100 ppb (µg/kg)	
9	0.000001	10^{-8}	10 ppb (µg/kg)	60-115
10	0.0000001	10^{-9}	1 ppb (µg/kg)	40-120

Nguyên lý cơ bản của cách tính độ KĐBĐ từ dữ liệu thực nghiệm là tổng hợp Độ KĐBĐ được ước lượng bằng căn bậc hai của tổng bình phương độ lệch chuẩn S đặc trưng cho độ không chụm của phép đo và một ước lượng độ chệch b theo phương trình:

$$u = \sqrt{(S^2 + b^2)}$$

Dữ liệu về độ chụm:

- S_r : Độ lệch chuẩn lặp lại trong KXN
- S_R : Độ lệch chuẩn tái lặp trong KXN

$$S = \sqrt{(S_r^2 + S_R^2)}$$

Dữ liệu về độ chệch:

- Δ : Độ chệch giữa giá trị trung bình kết quả đo lặp với giá trị chuẩn tương ứng.
- u_{ref} : Độ KĐBĐ của giá trị chuẩn/giá trị quy chiếu
- $u_r = \frac{S_r}{\sqrt{n}}$: Độ KĐBĐ từ độ chụm lặp lại

$$b = \sqrt{(\Delta^2 + u_{ref}^2 + \frac{S_r^2}{n})}$$

Phương pháp tiếp cận sử dụng dữ liệu thử nghiệm thành thạo.

Proficiency Testing-PT

Khi tham gia thành công vào thử nghiệm PT , KXN nhận được số Z –core, nghĩa là:

$$Z = \frac{X_{tb} - X_{ref}}{S_R}$$

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CĐHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	13/18

Trong đó X_{tb} là kết quả của KXN đã thu được để gửi cho cơ quan tổ chức

X_{ref} là giá trị ấn định (đối chứng) của mẫu thử

S_R là độ lệch chuẩn

Tương tự như cách tiếp cận đơn phòng, độ không đảm bảo đo có thể được ước lượng bằng:

$$u = \sqrt{(S^2 + b^2)}$$

Dữ liệu về độ chụm:

- $S = S_r$: Độ lệch chuẩn lặp lại trong KXN

Dữ liệu về độ chệch:

Δ : Độ lệch giữa giá trị trung bình kết quả đo lặp với giá trị của chất chuẩn sử dụng.

$$\Delta = X_{tb} - X_{ref}$$

- u_{ref} : Độ KĐBĐ của giá trị đã được ấn định làm giá trị đối chứng cho trong báo cáo PT.
- $u_r = \frac{S_r}{\sqrt{n}}$: Độ KĐBĐ từ độ chụm lặp lại

$$b = \sqrt{(\Delta^2 + u_{ref}^2 + \frac{S_r^2}{n})}$$

B. TRONG PHÂN TÍCH VI SINH VẬT

B.1 ĐỐI VỚI PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH TÍNH

Các thông số xác nhận thường bao gồm:

+ **Giới hạn phát hiện:** là nồng độ vi sinh vật thấp nhất trong mẫu có thể xác định được bằng phương pháp. Đối với phương pháp định tính giới hạn phát hiện được tính ở nồng độ có tối thiểu 90% mẫu có kết quả dương tính.

- *Cách xác định:*

Chọn đối tượng mẫu cần thực hiện thẩm định

Thử năm mật độ vi khuẩn cho mỗi loại vi sinh vật đích cho loại mẫu, gồm cả chứng âm.

Các mức độ cụ thể như sau:

- Mức độ 1 (Lo) là chứng âm, chỉ cần thực hiện 1 lần

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CDHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	14/18

- Mức độ 2 là mức độ phát hiện theo lý thuyết từ (1-9) CFU/25g và mỗi mức gây nhiễm ký hiệu L1a, L1b, L1c, với $(1 \leq L1a \leq L1b \leq L1c \leq 9)$ CFU/25g. Mức độ 2 được thực hiện 5 lần cho mỗi mẫu nhiễm.
- Mức độ 3 (L2) là mức trên mức phát hiện theo lý thuyết (10-15) CFU/25g, mức độ này chỉ cần thực hiện 1 lần.

- *Tính kết quả* : LOD của mỗi loại thực phẩm được tính như sau

LOD = nồng độ vi khuẩn nhiễm vào mẫu mà ở đó có ít nhất 90% mẫu phân tích có kết quả dương tính.

- *Đánh giá kết quả*

LOD < 10 là đạt yêu cầu

+ **Xác định độ chính xác** (hay độ đúng) là mức độ giống nhau giữa kết quả phân tích với giới hạn tham chiếu.

+ **Độ đặc hiệu**: là khả năng phân biệt vi sinh vật đích với các vi sinh vật khác

+ **Độ nhạy**: là tỷ lệ của các vi sinh vật đích có thể phát hiện được.

+ **Độ lệch dương**

+ **Độ lệch âm**

- Cách xác định*: Với mỗi đối tượng chuẩn bị các mẫu khác nhau, chuẩn bị các mẫu này thành 2 nhóm, trong đó có một nhóm mẫu âm tính một nhóm mẫu được gây nhiễm mức nồng độ khoảng bằng 10 lần LOD (không thông báo cho kiểm nghiệm viên). Bố trí các kiểm nghiệm viên phân tích độc lập theo cùng một phương pháp đang nghiên cứu.

- *Tính kết quả*

Kết quả	Mẫu chứng (+)	Mẫu chứng (-)
Mẫu có kết quả dương tính	TP	FP
Mẫu có kết quả âm tính	FN	TN

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CĐHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	15/18

$$\text{Độ chính xác} \quad AC = \frac{TP + TN}{N} \times 100$$

$$\text{Độ đặc hiệu} \quad SP = \frac{TN}{TN + FP} \times 100$$

$$\text{Độ nhạy} \quad SE = \frac{TP}{TP + FN} \times 100$$

$$\text{Độ lệch dương} \quad PD = \frac{FP}{FP + TP} \times 100$$

$$\text{Độ lệch âm} \quad ND = \frac{FN}{FN + TN} \times 100$$

Trong đó:

TP (True Positive): dương tính đúng (mẫu chứng có kết quả dương tính, kết quả phân tích cho kết quả dương tính)

FP (False Positive): Dương tính giả (Mẫu chứng cho kết quả âm tính, kết quả phân tích cho kết quả dương tính)

FN (False Negative): Âm tính giả (Mẫu chứng có kết quả dương tính, kết quả phân tích cho kết quả âm tính)

TN (true Negative): Âm tính đúng (mẫu chứng cho kết quả âm tính, kết quả âm phân tích cho kết quả âm tính)

$n = TP + FP + FN + TN$: Tổng số kết quả

- *Đánh giá kết quả* : Các thông số cần được đánh giá theo các chuẩn mực sau:

Độ chính xác (AC) $\geq 90\%$

Độ đặc hiệu (SP) $\geq 90\%$

Độ nhạy (SE) $\geq 90\%$

Độ lệch dương (PD) $\leq 10\%$

Độ lệch âm (ND) $\leq 10\%$

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CĐHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	16/18

B.2 ĐỐI VỚI PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG

Các thông số xác nhận thường bao gồm:

+ **Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng:** Đối với phương pháp định lượng, giới hạn phát hiện là nồng độ vi sinh vật thấp nhất mà phương pháp đó có thể xác định được nhưng chưa định lượng được.

- Giới hạn định lượng của phương pháp là nồng độ vi sinh vật thấp nhất mà phương pháp có thể định lượng được với độ chụm mong muốn.

- *Quy trình thực hiện:*

Thực hiện kiểm nghiệm 5 mẫu ở nồng độ tối thiểu. Tại mức phát hiện là trên 0 hoặc gần 0 để chắc chắn rằng số lượng mẫu dương tính có tỷ lệ < 50%.

Chọn 3-5 nồng độ trong khoảng nồng độ vi sinh vật dự kiến để phân tích (ví dụ 10, 20, 50 CFU/25 g). Mỗi nồng độ thực hiện lặp lại 6 lần. Ước tính lượng vi sinh vật thấp nhất trong mẫu có thể phát hiện 50% kết quả dương tính.

- *Tính kết quả:* Tính giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng theo công thức sau

$$S_0 = \frac{LC}{1,65}$$

Giới hạn phát hiện LOD = 3,3 x S₀

Giới hạn định lượng LOQ = 10 x S₀

Trong đó: LC; Lượng vi sinh vật thấp nhất trong mẫu có thể phát hiện 50% kết quả dương tính
S₀ : Tín hiệu nền.

+ **Xác định độ chụm (độ lặp lại và độ tái lập nội bộ)**

- Độ chụm được sử dụng để chỉ mức độ gần nhau giữa các kết quả phân tích
- Độ lặp lại chỉ độ chụm được thực hiện trong những điều kiện gần giống nhau bởi cùng một kiểm nghiệm viên và trong khoảng thời gian tương đối ngắn.
- Độ tái lập chỉ độ chụm được thực hiện bởi các kiểm nghiệm viên khác nhau (độ tái lập nội bộ phòng thử nghiệm hay còn gọi độ chụm trung gian) hoặc các phòng thử nghiệm khác nhau (độ tái lập liên phòng thử nghiệm)
- Quy trình thực hiện: Chọn khoảng 3- 5 loại nền mẫu thực phẩm, mỗi loại chọn 3-5 sản phẩm (mẫu tự nhiên hoặc mẫu tự nhiễm). Đối với mẫu tự nhiễm, cấy vi sinh vật với nồng độ khoảng 10²- 10³ CFU/ đơn vị

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CDHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	17/18

+ Xác định độ lặp lại: Một kiểm nghiệm viên thực hiện kiểm nghiệm các mẫu nói trên, mỗi mẫu lặp lại 6 lần trong khoảng thời gian ngắn.

+ Xác định độ tái lập nội bộ phòng thử nghiệm (độ chụm trung gian): hai kiểm nghiệm viên, kiểm nghiệm các mẫu nói trên, lặp lại 6 lần song song có thể thực hiện trong khoảng thời gian tương đối dài.

Các dữ liệu để xác định độ tái lập có thể thu được từ quá trình kiểm nghiệm mẫu thực tế, lưu lại các số liệu song song để tính toán.

- Tính kết quả

+ Độ lặp lại: Tính độ lệch chuẩn tương đối theo công thức

$$x_i = \frac{\log a_i + \log b_i}{2}$$

$$RSD_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [(\log a_i - \log b_i) / x_i]^2}{2n}}$$

Trong đó: a_i, b_i : Các kết quả phân tích song song của kiểm nghiệm viên

x_i : Kết quả trung bình của hai lần thí nghiệm song song.

n : Số kết quả phân tích song song của kiểm nghiệm viên

+ Độ tái lập nội bộ phòng thử nghiệm: Có nhiều kết quả lặp lại song song của hai kiểm nghiệm viên A và B. Tính độ lệch chuẩn tương đối (RSD) theo công thức sau:

$$x_i = \frac{\log a_i + \log b_i}{2}$$

$$RSD_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [(\log a_i - \log b_i) / x_i]^2}{2n}}$$

Trong đó: a_i, b_i : Các kết quả phân tích song song của hai kiểm nghiệm viên

x_i : Kết quả trung bình của hai lần thí nghiệm song song

TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT TỈNH KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM-CĐHA&TDCN	Mã hiệu:	QTQL-15
	Phiên bản:	04
QUY TRÌNH LỰA CHỌN PHÊ DUYỆT PHƯƠNG PHÁP THỬ	Ngày ban hành:	17/10/2022
	Trang:	18/18

n: Số kết quả phân tích song song của kiểm nghiệm viên

Trường hợp có nhiều kiểm nghiệm viên cùng thực hiện cũng có thể áp dụng công thức trên để tính độ tái lập

- Đánh giá kết quả: Khi trong phương pháp chuẩn có cung cấp các thông số về độ chụm thì kết quả xác định độ lặp lại SDr và độ tái lập SDR cần phải nhỏ hơn các giá trị nêu trong phương pháp chuẩn.

6. BIỂU MẪU/HỒ SƠ

TT	Tên biểu mẫu	Mã hiệu	Nơi lưu	Thời gian
1	Biên bản đánh giá điều kiện cơ bản	BM-QLCL-15-01	Khoa XN	3 năm
2	Kế hoạch xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp	BM-QLCL-15-02	Khoa XN	3 năm
3	Báo cáo kết quả xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp	BM-QLCL-15-03	Khoa XN	3 năm

KHÁNH