

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 240:**  
**XÉT NGHIỆM ĐỊNH LOẠI MUỖI TRUYỀN BỆNH**  
**SỐT XUẤT HUYẾT DENGUE BẰNG HÌNH THÁI HỌC**

**1. ĐẠI CƯƠNG**

**1.1. Mục đích**

Quy trình kỹ thuật định loại muỗi truyền bệnh sốt xuất huyết dengue bằng hình thái học được thực hiện nhằm phát hiện sự có mặt của loài muỗi truyền bệnh sốt xuất huyết trong mẫu xét nghiệm một cách an toàn, đáng tin cậy và kịp thời.

**1.2. Định nghĩa**

1.2.1. Giải thích từ ngữ

- Không áp dụng.

1.2.2. Từ viết tắt

PTN : Phòng thí nghiệm.

STAT : Số tay an toàn

ATSH : An toàn sinh học

**1.3. Nguyên lý**

Sử dụng các đặc điểm hình thái học trên cơ thể để định loại muỗi truyền bệnh cho người ở Việt Nam.

**2. CHUẨN BỊ**

**2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu, chuẩn bị mẫu, chuẩn bị máy, thực hiện xét nghiệm: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Nhập, phân tích, quản lý dữ liệu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y, máy tính và công nghệ thông tin hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: Trình độ 12/12 trở lên; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

**2.2. Vật tư**

2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Chloroform/ete/

- Nước cất
- Còn 70 %
- Còn 90 %
- Bảo quản sinh phẩm, hoá chất theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Lồng muối khung bằng inox (40x40x40cm)
- Lồng muối khung bằng inox (20x20x20cm)
- Vải lồng muối mắt lưới 32-36 lỗ
- Nút bấc (lie): 1-1,5 cm.
- Kim thuỷ tinh hoặc thép không rỉ
- Tuýp 1,5 - 2,0 mL, vô trùng các thể tích
- Ống lưu mẫu 2,0 mL có nắp xoáy chịu được nhiệt độ âm sâu
- Băng dính giấy trắng
- Bông thấm nước
- Vải lồng muối mắt lưới 32-36 lỗ
- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Khẩu trang y tế
- Các hóa chất, vật tư tiệt trùng, khử nhiễm
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

#### 2.3. Thiết bị

- Kính lúp
- Kính hiển vi
- Hệ thống các thiết bị văn phòng như máy tính, máy in, điều hoà.

#### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm

##### 2.4.1. Chuẩn bị bệnh nhân

Không áp dụng

##### 2.4.2. Thu thập và xử lý mẫu ban đầu

Không áp dụng

#### 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Phiếu ghi nhận thông tin mẫu



- Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm đảm bảo đủ các thông tin cần thiết.

#### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện là 48h (đã bao gồm các vị trí công việc).

#### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Thực hiện tại phòng xét nghiệm.

### 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học 1 theo mức độ nguy cơ của tác nhân tương ứng với kỹ thuật thực hiện theo quy định về an toàn sinh học phòng xét nghiệm.

### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 4.1. Các bước thực hiện

##### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

- Mô tả chi tiết và tuân tự các bước tiến hành.

- Các bước thực hiện

*Bước 1: Chuẩn bị hóa chất, mẫu*

+ Chuẩn bị hóa chất:

- Pha dung dịch ethanol 70°

Dung dịch ethanol 70°	1x	nx
ethanol 100° (mL)	70	70 x n
nước cất (mL)	30	30 x n

- Pha dung dịch ethanol 90°

Dung dịch ethanol 90°	1x	nx
ethanol 100° (mL)	90	90 x n
nước cất (mL)	10	10. n

*Bước 2: Chuẩn bị mẫu muối:*

+Làm chết muối bằng Chloroform hoặc ete hoặc cho vào ngăn đá tủ lạnh 10-15 phút.

+Cắm kim vào nút lie.

+Đổ muối vào lòng bàn tay trái hoặc "thót" sóp, tay phải cầm nút lie đã có kim, chạm nhẹ đầu kim vào muối cho nằm giữa, cầm đầu kim vào giữa ngực muối.

+Dùng kim mổ muối vuốt nhẹ căng chân, vôi, pan cho thẳng.

**Bước 3: Định loại muỗi**

+Định loại muỗi rồi ghi nhãn: tên loài, địa điểm bắt và thời gian bắt. Định loại dựa trên theo khóa định loại Illustrated key to mosquitoes of Viet Nam của Stojanovich và Scott, 1966.

**Bước 4: Nhập, xử lý số liệu và trả kết quả**

+Nhập số liệu vào biểu mẫu theo dõi và ghi nhận kết quả, làm báo cáo/trả kết quả.

**Bước 5: Hủy mẫu và khử nhiễm**

+Mẫu muỗi được hủy theo quy trình xử lý an toàn sinh học đối với rác thải y tế. Khử nhiễm dụng cụ bằng cồn 70 độ ngay sau khi kết thúc quá trình định loại.

**4.1.2. Khử nhiễm và xử lý mẫu**

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm
  - Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.
  - Mẫu sau xét nghiệm sẽ được lưu giữ tại PTN: không áp dụng
  - Với những mẫu xét nghiệm không cần lưu, tiến hành hủy mẫu theo quy định.
  - Mẫu muỗi được hủy theo quy trình xử lý an toàn sinh học đối với rác thải y tế.
- Khử nhiễm dụng cụ bằng cồn 70 độ ngay sau khi kết thúc quá trình định loại.

**4.2. Nhận định kết quả****4.2.1. Xác định hiệu lực của lần xét nghiệm**

Không áp dụng

**4.2.2. Nhận định kết quả**

- Muỗi cái được định loại theo khoá định loại, so sánh với các đặc điểm hình thái với tiêu bản mẫu và ghi nhận số liệu vào biểu mẫu theo dõi và ghi nhận kết quả, làm báo cáo/trả kết quả.

**4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ****4.3.1. Trả kết quả**

- Nhập kết quả xét nghiệm vào biểu mẫu trả kết quả.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả xét nghiệm chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả xét nghiệm.
- Trả kết quả xét nghiệm cho đúng đối tượng yêu cầu xét nghiệm hoặc cơ quan/người có thẩm quyền.

**4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu**

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu ghi nhận thông tin mẫu

2	Biểu mẫu theo dõi và ghi nhận kết quả
3	Biểu mẫu trả kết quả

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

- Ghi nhận thông tin mẫu vào phiếu thông tin bao gồm các thông tin về địa lý.

- Sinh phẩm, vật tư tiêu hao bị nhiễm

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Ghi nhận các bước thực hiện vào biểu mẫu theo dõi và ghi nhận kết quả

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Phiên giải kết quả: Vẫn thực hiện phiên giải khi các tiêu chí phản ứng không đạt yêu cầu, các bước thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các mẫu.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Nội kiểm

- So sánh với các bộ tiêu bản mẫu

#### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

- Gửi hình ảnh mẫu so sánh với các phòng thí nghiệm khác trong và ngoài nước nếu có.

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Trần Như Dương, Trần Vũ Phong và cs. “Giám sát và phòng chống côn trùng và động vật y học của một số bệnh phổ biến ở người”. NXB Y học, 2021.

- Khóa định loại Illustrated key to mosquitoes of Viet Nam của Stojanovich và Scott, 1966.

- Bộ Y Tế (2011), Hướng dẫn giám sát và phòng chống sốt xuất huyết (Ban hành kèm theo Quyết định số 1499/QĐ-BYT ngày 17/5/2011 của Bộ trưởng Bộ Y tế)



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 241:  
XÉT NGHIỆM ĐỊNH LOẠI BỌ GÂY TRUYỀN BỆNH  
SỐT XUẤT HUYẾT DENGUE BẰNG HÌNH THÁI HỌC**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình kỹ thuật định loại bọ gây của muỗi truyền bệnh sốt xuất huyết dengue bằng hình thái học được thực hiện nhằm phát hiện sự có mặt của loài muỗi truyền bệnh sốt xuất huyết trong mẫu xét nghiệm một cách an toàn, đáng tin cậy và kịp thời.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Không áp dụng.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

PTN	: Phòng thí nghiệm.
STAT	: Sổ tay an toàn
ATSH	: An toàn sinh học
TN	: thử nghiệm
ĐC	: đối chứng

### **1.3. Nguyên lý**

Sử dụng các đặc điểm hình thái học trên cơ thể để định loại bọ gây của muỗi truyền bệnh cho người ở Việt Nam.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu, chuẩn bị mẫu, chuẩn bị máy, thực hiện xét nghiệm: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình được giao.

- Nhập, phân tích, quản lý dữ liệu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y, máy tính và công nghệ thông tin hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.



**2.2. Vật tư****2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất***a. Dùng cho xét nghiệm:*

- Nước cất
- Cồn 70% và 90%

**2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Hộp đựng bọ gậy
- Đĩa petri
- Lamén
- Lam kính
- Keo cố định mẫu
- Kim mổ côn trùng
- Que thủy tinh
- Tuýp 1,5 - 2,0 mL, vô trùng các thể tích
- Ống lưu mẫu 2,0 mL có nắp xoáy chịu được nhiệt độ âm sâu
- Băng dính giấy trắng
- Bông thấm nước
- Vải lòng muỗi mắt lưới 32-36 lỗ
- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Khẩu trang y tế
- Nước cất
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...
- Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất

**2.3. Thiết bị**

- Kính lúp
- Kính hiển vi
- Hệ thống các thiết bị văn phòng như máy tính, máy in, điều hoà.

**2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm****2.4.1. Chuẩn bị bệnh nhân**

- Không áp dụng

**2.4.2. Thu thập và xử lý mẫu ban đầu**

- Không áp dụng

## 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Phiếu ghi nhận thông tin mẫu
- Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm đảm bảo đủ các thông tin cần thiết.

## 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện là 48h (đã bao gồm các vị trí công việc).

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Các phòng thí nghiệm côn trùng học trong hệ thống y tế.

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học 1 theo mức độ nguy cơ của tác nhân tương ứng với kỹ thuật thực hiện theo quy định về an toàn sinh học phòng xét nghiệm.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

- Mô tả chi tiết và tuần tự các bước tiến hành.
- Các bước thực hiện

*Bước 1: Chuẩn bị hóa chất, mẫu*

+ Chuẩn bị hóa chất:

- Pha dung dịch ethanol 70°

Dung dịch ethanol 70°	1x	nx
ethanol 100° (mL)	70	70 x n
nước cất (mL)	30	30 x n

- Pha dung dịch ethanol 90°

Dung dịch ethanol 90°	1x	nx
ethanol 100° (mL)	90	90 x n
nước cất (mL)	10	n

*Bước 2: Chuẩn bị mẫu:*

- + Chuyển mẫu sang dung dịch ethanol 70° trong 20 phút.
- + Đặt bộ gậy lên lam kính, sửa tư thế bộ gậy để nhìn rõ các đặc điểm hình thái dùng để định loại (lông, răng lược hoặc vẩy kitin).

*Bước 3: Định loại bộ gậy*

- + Định loại bộ gậy và ghi nhãn. Định loại dựa trên theo khóa định loại Illustrated key to mosquitoes of Viet Nam của Stojanovich và Scott, 1966.

*Bước 4: Nhập, xử lý số liệu và trả kết quả*

- + Nhập số liệu vào biểu mẫu theo dõi và ghi nhận kết quả, làm báo cáo/trả kết quả.

*Bước 5: Hủy mẫu và khử nhiễm*

- + Mẫu bộ gậy được hủy theo quy trình xử lý an toàn sinh học đối với rác thải y tế. Khử nhiễm dụng cụ bằng cồn 70 độ ngay sau khi kết thúc quá trình định loại.

4.1.2. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm
  - Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.
  - Mẫu sau xét nghiệm sẽ được lưu giữ tại PTN: không áp dụng
  - Với những mẫu xét nghiệm không cần lưu, tiến hành huỷ mẫu theo quy định.
  - Mẫu muỗi được hủy theo quy trình xử lý an toàn sinh học đối với rác thải y tế.
- Khử nhiễm dụng cụ bằng cồn 70 độ ngay sau khi kết thúc quá trình định loại.

**4.2. Nhận định kết quả**

4.2.1. Xác định hiệu lực của lần xét nghiệm

- Không áp dụng

4.2.2. Nhận định kết quả

- Muỗi cái được định loại theo khoá định loại, so sánh với các đặc điểm hình thái với tiêu bản mẫu và ghi nhận số liệu vào biểu mẫu theo dõi và ghi nhận kết quả, làm báo cáo/trả kết quả.

**4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ**

4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả xét nghiệm vào biểu mẫu trả kết quả.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả xét nghiệm chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả xét nghiệm.
- Trả kết quả xét nghiệm cho đúng đối tượng yêu cầu xét nghiệm hoặc cơ quan/người có thẩm quyền.

4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu ghi nhận thông tin mẫu
2	Biểu mẫu theo dõi và ghi nhận kết quả

*Sun* *mm*

3	Biểu mẫu trả kết quả
---	----------------------

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

- Ghi nhận thông tin mẫu vào phiếu thông tin bao gồm các thông tin về địa lý.

- Sinh phẩm, vật tư tiêu hao bị nhiễm

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Ghi nhận các bước thực hiện vào biểu mẫu theo dõi và ghi nhận kết quả

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Phiên giải kết quả: Vẫn thực hiện phiên giải khi các tiêu chí phản ứng không đạt yêu cầu, các bước thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các mẫu.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Nội kiểm

- So sánh với các bộ tiêu bản mẫu

#### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

- Gửi hình ảnh mẫu so sánh với các phòng thí nghiệm khác trong và ngoài nước nếu có.

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Trần Như Dương, Trần Vũ Phong và cs. “Giám sát và phòng chống côn trùng và động vật y học của một số bệnh phổ biến ở người”. NXB Y học, 2021.

- Khóa định loại Illustrated key to mosquitoes of Viet Nam của Stojanovich và Scott, 1966.

- Bộ Y Tế (2011), Hướng dẫn giám sát và phòng chống sốt xuất huyết (Ban hành kèm theo Quyết định số 1499/QĐ-BYT ngày 17/5/2011 của Bộ trưởng Bộ Y tế)



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 242:

**XÉT NGHIỆM ĐỊNH LOẠI CHUỘT BẰNG HÌNH THÁI HỌC**

**1. ĐẠI CƯƠNG**

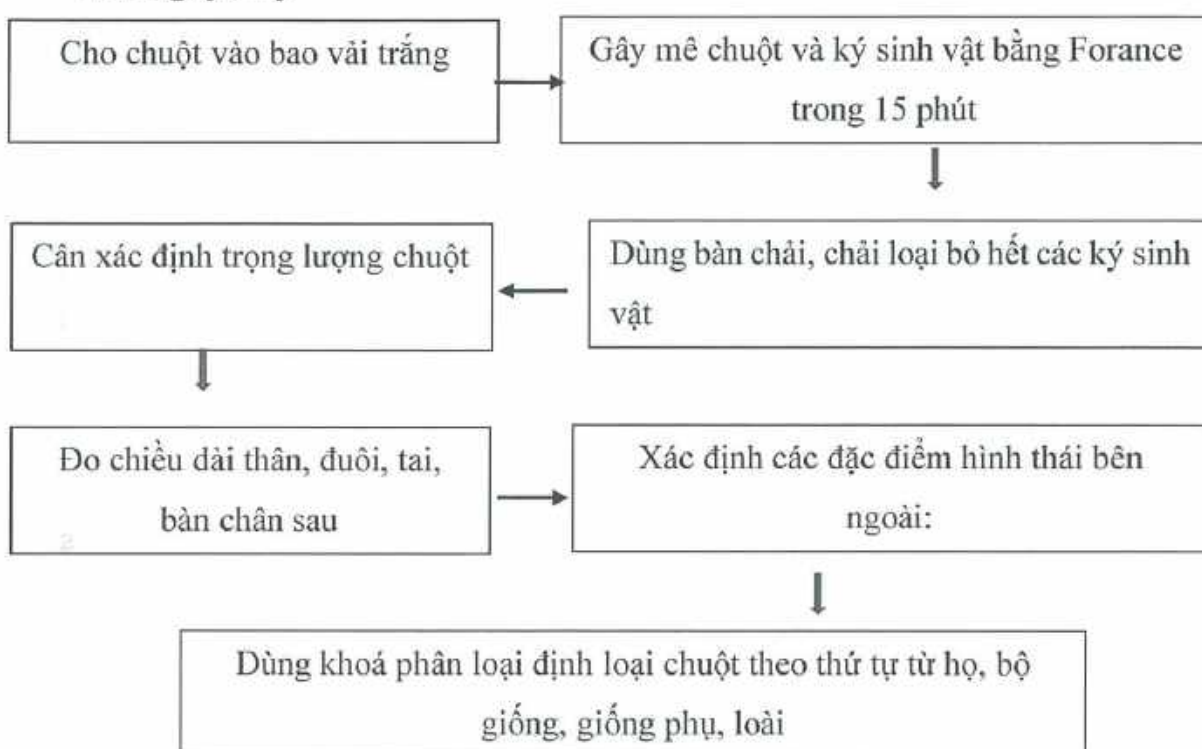
**1.1. Mục đích**

Xác định thành phần loài chuột để cung cấp thông tin về sự đa dạng sinh học, hỗ trợ trong việc quản lý môi trường, kiểm soát dịch bệnh và nghiên cứu y học.

**1.2. Định nghĩa**

Không áp dụng.

**1.3. Nguyên lý**



**2. CHUẨN BỊ**

**2.1. Người thực hiện**

- Chuẩn bị mẫu và xét nghiệm: 1 cán bộ trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

- Xem xét và phê duyệt kết quả: 01 cán bộ trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

*[Handwritten signatures]*

**2.2. Vật tư:****2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

Hóa chất gây mê isoflurane

**2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Găng tay

- Khẩu trang N95

- Khăn trải bàn

- Cân kỹ thuật

- Thước đo 30 cm

- khay inox 40 cm x 50 cm

- Bao vải trắng 30 cm x 40 cm

- Bàn chải lớn

- Khóa phân loại các giống, loài thuộc họ chuột–MURIDAE (Động vật chí Việt Nam. Hà Nội; Viện khoa học và công nghệ Việt Nam; 2007)

**2.3. Thiết bị:**

Không áp dụng

**2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm:**

Không áp dụng

**2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm nếu có: không áp dụng****2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Trong khoảng 1 giờ

**2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Tại thực địa hay tại phòng xét nghiệm.

**3. AN TOÀN**

- Mang đầy đủ trang phục bảo hộ lao động: áo choàng, khẩu trang, dép kín mũi và găng tay trong toàn bộ quá trình làm việc.

- Tháo bỏ ngay găng tay khi bị dính bẩn, rửa tay bằng xà phòng và thay găng tay mới. Không sờ vào mắt, mũi, da khi đang mang găng tay. Không mang găng tay ra khỏi nơi làm việc.

- Dụng cụ sau khi sử dụng phải vệ sinh sạch bằng xà phòng.

- Tuân thủ nguyên tắc thực hành An toàn sinh học

**4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH****4.1. Các bước thực hiện****4.1.1. Thực hiện kỹ thuật**

Loại bỏ ký sinh vật

- Hầu hết các loài chuột đều mang bọ chét, chấy và ve bét... Do đó, trước khi định loại cần phải chải hết các động vật ký sinh để tránh lây lan các mầm bệnh

- Cho chuột vào trong bao vải trắng, sau đó gây mê chuột và ký sinh vật bằng thuốc gây mê trong 15 phút, dùng bàn chải loại bỏ hết ký sinh vật, khi đó mới bắt đầu tiến hành định loại.

#### Định loại

- Định loại chuột bằng cách quan sát hình thái bên ngoài: màu lông, mõm, chiều dài thân, chiều dài đuôi, chiều dài tai, chiều dài bàn chân sau, công thức vú, tỷ lệ giữa thân, đuôi và trọng lượng cơ thể...

- Định loại chuột theo khóa phân loại các giống, loài thuộc họ chuột-MURIDAE (Động vật chí Việt Nam. Hà Nội; Viện khoa học và công nghệ Việt Nam; 2007)

#### KHOÁ ĐỊNH LOẠI CÁC GIỐNG

- 1(2). Ngón cái đối diện với các ngón khác, có móng.....
- 2(1). Ngón cái không đối diện với các ngón khác, có vuốt nhọn.....
- 3(4). Ngón út chân sau phẳng. Đuôi dài gấp đôi thân. Có túm lông ở mút. *Vandeleuria*
- 4(3). Ngón út chân sau có vuốt nhọn.....
- 5(6). Thân dài hơn 150 mm. Vuốt ngắn bằng ngón. Có vòng thẫm quanh mắt... *Chiromyscus*
- 6(5). Thân ngắn hơn 130 mm. Vuốt dài hơn ngón. Không có vòng thẫm quanh mắt.
- 7(8). Bàn chân sau ngắn hơn 20 mm. Không có vú ngực. .... *Chiropodomys*
- 8(7). Bàn chân sau dài hơn 20 mm. Hai đôi vú ngực. .... *Hapalomys*
- 9(10). Chiều dài thân ngắn hơn 90 mm. Bàn chân ngắn hơn 22 mm.....
- 10(9). Chiều dài thân dài hơn 100 mm. Bàn chân dài hơn 23 mm.....
- 11(12). Mõm tù. Vành tai phủ lông. Có màng da phủ lỗ tai. .... *Micromys*
- 12(11). Mõm nhọn. Vành tai trần nhô ra khỏi lông. Màng da không che phủ kín lỗ tai... *Mus*
- 13(14). Trên lưng nhiều lông dài lờm chờm 70-100mm..... *Bandicota*
- 14(13). Trên lưng không có những lông dài lờm chờm..... *Rattus*

#### GIỐNG CHUỘT THƯỜNG- *Rattus*

Giống này được chia thành 5 giống phụ với 21 loài ở Việt Nam

Chuột thường phân bố rộng khắp từ Madagasca, châu Âu và Bắc Á, phổ biến ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới.

Chuột đặc trưng bởi nướu răng trong sau thiếu. Răng hàm mòn thành hình chữ V và cứng. Răng hàm thứ nhất nhỏ hơn chiều dài dãy răng hàm. Bầu nhĩ to, trên 15% chiều dài chằm mũi.



## KHOÁ ĐỊNH LOẠI CÁC GIỐNG PHỤ

Theo đặc điểm hình thái ngoài.

- 1(2). Mặt lưng màu xám trắng nhạt, lông thô cứng xoắn.....*Berylmys*  
 2(1). Mặt lưng màu nâu tối đến vàng đỏ. Lông mềm, thẳng .....  
 3(4). Dài bàn chân vượt 6 lần chiều ngang. Các đệm bàn chân nhóm lại ở gốc các ngón .....*Maxomys*  
 4(3). Dài bàn chân không vượt quá 4 lần chiều rộng. Các đệm ngón chân nằm rải rác khắp lòng bàn chân .....  
 5(6). Dài bàn chân ngắn hơn 35 mm. ....*Niviventer*  
 6(5). Dài bàn chân dài hơn 35 mm. ....  
 7(8). Đuôi dài hơn 650 mm. Bàn chân dài hơn 45 mm. ....*Leopoldamys*  
 8(7). Đuôi ngắn hơn 250 mm. Bàn chân ngắn hơn 45 mm. ....*Rattus*

GIỐNG PHỤ CHUỘT BỤNG TRẮNG - *Niviventer*

Giống phụ này gồm có 5 loài ở Việt Nam.

Phân bố ở Ấn Độ, Nepal, Trung Quốc, Thái Lan, Malayxia, Indônêxia.

Chuột này đặc trưng bởi cơ thể nhỏ, đuôi dài, bụng trắng. Có lông gai ở mặt lưng. Chuột có 4 đôi vú. Bầu nhĩ nhỏ. Khẩu cái ngắn.

Chuột này sống chủ yếu trong rừng già và rừng thứ sinh, ít bị tác động mạnh.

Thức ăn của chúng chủ yếu là thực vật, đôi khi gặm cả côn trùng trong dạ dày của chúng. Chuột có 4 đôi vú (2+2).

## KHOÁ ĐỊNH LOẠI CÁC LOÀI

Theo đặc điểm hình thái ngoài.

- 1(2). Đuôi đồng màu nâu tối. ....*R. (Niviventer) cremoriventer*  
 2(1). Đuôi hai màu trên nâu tối, dưới trắng .....  
 3(10). Lông thô cứng .....  
 4(3). Lông mềm. ....*R. (N.) confucianus*  
 5(6). Lông thô cứng ánh kim. Màu lưng vàng nhạt, bụng trắng có điểm vàng.....*R. (N.) bukit*  
 6(5). Màu lưng đỏ bụng trắng kem .....  
 7(8). Đuôi dài hơn 140% thân. Bàn chân lớn hơn 28 mm. ....*R. (N.) fulvescens*  
 9(7). Đuôi ngắn hơn 140% thân. Bàn chân bé hơn 25 mm. .... *R. (N.) niviventer*

GIỐNG PHỤ CHUỘT XU RI - *Maxomys*

Giống phụ này gồm có 2 loài ở Việt Nam.

Cơ thể có chân rộng thích nghi với đời sống trên mặt đất. Bộ lông có xen lẫn lông gai cứng ở chuột xuri và mềm ở chuột xuri lông mềm. Hộp sọ rộng và ngắn, hẹp ở phía trước và hẹp ở phía sau. Bầu nhĩ nhỏ và dẹt. Có 46 nhiễm sắc thể.



Chuột thích sống trong rừng già. Chuột hoạt động chậm chạp. Chuột chủ yếu ăn thực vật. Cá thể cái đẻ 2-7 con/ lứa. Công thức vú nhóm này là 2+2=8

#### KHOÁ ĐỊNH LOẠI CÁC LOÀI

Theo đặc điểm hình thái ngoài.

1(2). Lông mềm. Màu trắng lan đến ngón.....*R. (Maxomys) moi*

2(1). Lông thô cứng. Màu trắng bàn tay không đạt đến ngón .....*R. (M.) surifer*

#### GIỐNG PHỤ CHUỘT MỐC - *Berylmys*

Giống phụ này gồm 2 loài ở Việt Nam.

Phân bố ở Ấn Độ, Mianma, Trung Quốc, Lào Thái Lan, Malayxia.

Chuột mốc có kích thước trung bình ở chuột mốc nhỏ và kích thước to ở chuột mốc lớn. Mặt lưng màu xám rỉ sắt, bụng hoàn toàn trắng.

Chuột thích sống ở sinh cảnh bìa rừng, cây bụi. Chuột sống ở các sườn núi đá và các đồi gần rừng.

#### KHOÁ ĐỊNH LOẠI CÁC LOÀI

Theo đặc điểm hình thái ngoài.

1(2). Bàn chân ngắn hơn 45 mm. 3 đôi vú .....*Rattus (Berylmys) berdmorei*

2(1). Bàn chân dài hơn 45 mm. Hai đôi vú. ....*R. (B.) bowersi*

#### GIỐNG PHỤ CHUỘT NÚI - *Leopoldamys*

Giống phụ này gồm có hai loài ở Việt Nam.

Chuột phân bố ở Ấn Độ, Mianma, Trung Quốc, Lào, Thái Lan, Malayxia và Indônêxia. Cơ thể chuột to với đuôi dài. Chuột thích sống trong rừng già núi cao, rừng núi đá và núi đất. Chuột ăn thực vật là chủ yếu. Chuột thường hoạt động ban đêm.

#### KHOÁ ĐỊNH LOẠI CÁC LOÀI

Theo đặc điểm hình thái ngoài.

1(2). Bàn chân dài hơn 50 mm. Màu lưng tối. Bụng trắng bạch.....*R. (leopoldamys) edwardsi*

2(1). Bàn chân nhỏ hơn 48 mm. Màu lưng vàng đỏ. Lông bụng có gốc màu xám.....*R. (L.) sabanus*

#### GIỐNG PHỤ CHUỘT THƯỜNG - *Rattus*

Giống phụ này gồm có 10 loài ở Việt Nam.

Phân bố của chúng liên quan tới hoạt động của con người. Chuột nhà, chuột lắt, chuột đàn và chuột cống sống trong khu dân cư nông thôn và đô thị. Chuột bụng bạc và chuột đồng bé sống ở khu vực đồng ruộng. Chuột phân bố ở Nepal, Ấn Độ, Trung Quốc, Lào, Thái Lan, Mianma, Philipin và Indônêxia.

Chuột được đặc trưng bởi bầu nhĩ lớn hơn so với các giống phụ khác. Khẩu cái bằng một nửa chiều dài chằm mũi. Lỗ khẩu cái dài, đuôi đồng màu. Xương chủy ngắn ở chuột đồng bé, dài hơn ở chuột bóng. Bầu nhĩ nhỏ đối với chuột bóng, chuột rừng và

to ở chuột bụng bạc. Các gờ xương đỉnh đô cao ở phần trên của sọ và khá gần nhau ở chuột công, thấp ở chuột đồng bé. Xương chụy rộng ở chuột rừng.

### KHOÁ ĐỊNH LOẠI CÁC LOÀI

Theo đặc điểm hình thái ngoài.

- 1(2). Mu bàn chân màu sáng. Lông mềm như tơ. Đuôi bằng hoặc dài hơn thân, đồng màu. Đệm chân có các nếp nằm ngang.....*R. nitidus*
- 2(1). Mu bàn chân màu tối.....
- 3(4). Đuôi ngắn hơn thân. Đệm chân nhẵn .....
- 4(3). Đuôi dài hơn thân. Đệm bàn chân có các nếp nằm ngang.....
- 5(6). Thân dài hơn 160 mm. Lông bụng trắng tận gốc. Ba đôi vú.....*R. argentiverter*
- 6(5) Thân ngắn hơn 150 mm. Lông bụng xám ở gốc. Hai đôi vú.....
- 7(8). Đuôi vượt 90% dài thân. Mu bàn tay trắng. Lưng màu xám nâu. Chóp lông bụng trắng.....*R. losea*
- 8(7). Đuôi ngắn hơn 90% dài thân. Mu bàn tay màu tối. Lưng nâu tối. Bụng xám tối.....*R. osgoodi*
- 9(10). Bàn chân bé hơn 24 mm. Hai đôi vú bụng và hai đôi vú ngực.....*R. exulans*
- 10(9). Bàn chân vượt quá 25 mm. Bốn đôi vú.....
- 11(12). Bàn chân ngắn hơn 33 mm. Hai đôi vú ngực. Ba đôi vú bụng .....
- 12(11). Bàn chân vượt quá 33 mm. Bụng xám nhạt. Ba đôi vú ngực và 3 đôi vú bụng..... *R. norvegicus*
- 13(14). Mặt bụng trắng, có hoặc không phớt vàng ở ngực. Đuôi bằng hoặc hơn thân....*R. molliculus*
- 14(13). Mặt bụng màu vàng thổ, đặc biệt ở ngực. Mu bàn tay có vết thâm.....  
.....*R. flavipectus*
- 15(16). Thân nhỏ hơn 170 mm. Bụng màu trắng bạch.....*R. koratensis*
- 16(15). Thân vượt 200 mm. Gốc lông bụng màu xám.....*R. germaini*

### GIỐNG CHUỘT NHẤT - *Mus*

Phân bố ở Ấn Độ, Nepal, Xrilanca, Mianma, Trung Quốc, Thái Lan, Lào, Malayxia và Indônêxia. Chuột nhất nhà phân bố ở nhiều nước trên thế giới, châu Âu, châu á và châu Phi.

Chuột nhất được đặc trưng bởi cơ thể nhỏ nhất trong họ chuột thường ở Việt Nam, răng hàm trên thứ nhất to dài hơn 1/2 chiều dài dãy răng hàm. Khoảng trống răng của chuột nhất nhà ngắn hơn 1/2 chiều dài chằm mũi. Chuột nhất sống trong nhà, ngoài đồng ruộng hoặc trong rừng gần nương rẫy.



## KHOÁ ĐỊNH LOẠI CÁC LOÀI

Theo đặc điểm hình thái ngoài.

- 1(2). Bàn chân lớn hơn 20 mm. lưng phủ lông gai dẹt. ....*Mus pahari*  
 2(1). Bàn chân nhỏ hơn 20 mm. Lưng không có gai cứng. ....  
 3(4). Bộ lông thô cứng.....*M. cookii*  
 4(3). Bộ lông mềm .....  
 5(6). Thân và đuôi đồng màu. ....*M. musculus*  
 6(5.) Đuôi hai màu, mặt dưới sáng hơn mặt lưng.....  
 7(8). Đuôi dài hơn thân. Lưng màu xám thẫm.....*M. caroli*  
 8(7). Đuôi ngắn hơn thân. Lưng màu hồng vàng.....*M. cervicolor*

GIỐNG CHUỘT ĐẤT - *Bandicota*

Giống này gồm có 2 loài ở Việt Nam.

Chúng phân bố ở Ấn Độ, Nepal, Xrilanca, Mianma, Trung Quốc, Lào, Thái Lan, Malayxia và Indônêxia.

Chuột đất đặc trưng bởi lỗ khẩu cái dài. Đuôi ngắn tương đương với chuột cống. Mũi ngắn, tù và khoẻ. Hộp sọ hẹp, chắc. Răng cửa hàm trên dày hơn 4 mm. Chuột có 6 đôi vú.

Chuột đất đào hang giỏi dưới mặt đất.

Chuột ăn chủ yếu là thực vật. Chuột cái đẻ 3- 12 con/lứa và 3 lứa/năm.

Chuột đất thường phá hoại hoa màu và các cây trồng khác.

## KHOÁ ĐỊNH LOẠI CÁC LOÀI

Theo đặc điểm hình thái ngoài.

- 1(2). Bàn chân sau lớn hơn 50 mm.....*Bandicota indica*  
 2(1). Bàn chân sau nhỏ hơn 45 mm.....*B. savilei*  
 4.1.2. Khử nhiễm và xử lý mẫu

**4.2. Nhận định kết quả**

Không áp dụng

**4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ:**

Không áp dụng

**5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Không áp dụng

**6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG:**

Không áp dụng

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Thường quy giám sát và phòng, chống bệnh dịch hạch (Ban hành kèm theo quyết định số: 33/2003/QĐ-BYT ngày 07 tháng 01 năm 2003 của Bộ trưởng Bộ Y Tế).
- Đặng Tuấn Đạt, phạm Văn Mậu. Bệnh dịch hạch: Dịch tễ học, giám sát và phòng chống. Hà Nội; Nhà xuất bản y học; 2003.
- Khóa phân loại các giống, loài thuộc họ chuột–MURIDAE (Động vật chí Việt Nam. Hà Nội; Viện khoa học và công nghệ Việt Nam; 2007).



## Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 243:

**XÉT NGHIỆM XÁC ĐỊNH VI RÚT CÚM KHÁNG THUỐC  
BẰNG KỸ THUẬT ỨC CHẾ NEURAMINIDASE (NAI)**

**1. ĐẠI CƯƠNG****1.1. Mục đích**

Quy trình xác định vi rút cúm kháng thuốc bằng kỹ thuật ức chế neuraminidase (NAI) được thực hiện nhằm phát hiện sự có mặt của vi rút cúm kháng thuốc trong mẫu xét nghiệm một cách an toàn, đáng tin cậy và kịp thời..

**1.2. Định nghĩa**

## 1.2.1. Giải thích từ ngữ

*IC<sub>50</sub>*: Nồng độ chất ức chế mà tại đó có thể ức chế được 50% tác nhân vi khuẩn/vi rút đang hoạt động. Quy trình này ứng dụng xác định giá trị *IC<sub>50</sub>* đối với vi rút cúm.

## 1.2.2. Từ viết tắt

ATSH	: An toàn sinh học
HA	: Hemagglutinin
MUNANA	: 2'-(4-Methylumbelliferyl)- $\alpha$ -D-N-acetylneuraminic acid sodium salt hydrat
NA	: neuraminidase
PTN	: Phòng thí nghiệm
TCYTTG	: Tổ chức Y tế Thế giới

**1.3. Nguyên lý**

Kỹ thuật xác định mức độ nhạy cảm với oseltamivir bao gồm 2 bước: xác định mức độ hoạt động của neuraminidase và xác định độ nhạy cảm của vi rút cúm với oseltamivir bằng phản ứng ức chế neuraminidase (NA). Kỹ thuật này dựa trên nguyên lý hoạt động của NA. Dưới tác dụng của NA, axit sialic phân tách với nhóm đường, giải phóng vi rút cúm khỏi bề mặt tế bào cảm nhiễm. Do vậy, ức chế sự phân tách này sẽ cản trở quá trình giải phóng vi rút cúm, ngăn chặn sự phát tán của vi rút trong cơ thể. MUNANA [2'-(4-Methylumbelliferyl)- $\alpha$ -D-N-acetylneuraminic acid sodium salt hydrate] là chất nền huỳnh quang được sử dụng trong thử nghiệm xác định mức độ nhạy cảm với oseltamivir và mức độ hoạt động của neuraminidase của vi rút cúm. Trong phản ứng này, MUNANA sẽ bị phân tách bởi NA, giải phóng phân tử phát huỳnh quang 4-Methylumbelliferyl (4-MU) và được đọc bởi máy đọc tín hiệu huỳnh quang.

**2. CHUẨN BỊ****2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu, chuẩn bị mẫu, chuẩn bị máy, thực hiện xét nghiệm: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình được

giao.

- Nhập, phân tích, quản lý dữ liệu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y, máy tính và công nghệ thông tin hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

## 2.2. Vật tư

### 2.2.1 Sinh phẩm, hoá chất

*a. Dùng cho xét nghiệm:*

- Oseltamivir Carboxylate

- Zanamivir

- MUNANA [2' 2'-(4-Methylumbelliferyl)- $\alpha$ -D-N-acetylneuraminic acid sodium salt hydrate]

- Kit xác định mức độ nhạy cảm của vi rút cúm bằng tín hiệu huỳnh quang.

Bảo quản vật tư: theo hướng dẫn tại quy trình quản lý vật tư xét nghiệm, thử nghiệm, hiệu chuẩn.

*b. Mẫu chứng, mẫu chuẩn*

- Bộ chứng chuẩn được cung cấp bởi phòng thí nghiệm tham chiếu của TCYTTG.

### 2.2.2 Vật tư tiêu hao

- Tuýp 1,1 mL

- Tuýp 2,0 mL nắp xoáy bảo quản mẫu ở -70 °C

- Tuýp 15 mL

- Tuýp 50 mL

- Phiến 96 giếng đáy phẳng

- Phiến 96 giếng đáy tròn

- Hộp giấy đựng mẫu

- Đầu côn có lọc, vô trùng và không có nuclease các thể tích: 10  $\mu$ L, 20  $\mu$ L, 30  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L.

- Micropipet các cỡ: 10  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L

- Pipet đa kênh theo các cỡ: 10  $\mu$ L, 50  $\mu$ L, 300  $\mu$ L

- Giá để tuýp

- Găng tay không bột các kích cỡ.

- khay lạnh

- Máng

- Giấy thấm

- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư: theo hướng dẫn tại quy trình quản lý vật tư xét nghiệm, thử nghiệm, hiệu chuẩn.

### 2.3. Thiết bị

- Máy spindown
- Tủ an toàn sinh học cấp 2
- Máy lắc
- Tủ lạnh
- Tủ lạnh âm.
- Máy đọc tín hiệu huỳnh quang
- Các trang thiết bị khác (bàn xét nghiệm, máy lọc nước...), phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm

#### 2.4.1 Chuẩn bị bệnh nhân

Không áp dụng

#### 2.4.2 Tiếp nhận và xử lý mẫu ban đầu

- Loại mẫu xét nghiệm: chủng vi rút cúm mùa
- Chủng vi rút cúm trước khi thực hiện HAI được làm tan và bảo quản ở 4 °C.
- Tiêu chí chấp nhận mẫu: thể tích mỗi chủng phải đảm bảo  $\geq 1\text{mL}$ , được lưu giữ ở điều kiện -70 °C trước khi tiến hành xét nghiệm.

### 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Phiếu yêu cầu xét nghiệm.
- Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm đảm bảo đủ các thông tin cần thiết.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

- Tổng thời gian thực hiện kỹ thuật 1 mẫu kể từ khi nhận mẫu đến khi trả lời kết quả là 1 ngày làm việc.

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm ATSH cấp 2

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học cấp 2 theo mức độ nguy cơ của tác nhân tương ứng với kỹ thuật thực hiện theo quy định về an toàn sinh học phòng xét nghiệm.



#### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

##### 4.1. Các bước thực hiện

###### 4.1.1 Thực hiện kỹ thuật

###### a. Chuẩn bị mẫu, hoá chất và quản lý dữ liệu của mẫu

- Lập danh sách và nhập dữ liệu/thông tin các mẫu trước khi xét nghiệm vào biểu mẫu.

- Thực hiện chuẩn bị hoá chất và mẫu tạo PTN ATSH cấp 2

- Chuẩn bị hoá chất: Theo yêu cầu của nhà sản xuất

+ Chất ức chế Neuraminidase: Oseltamivir, Zanamivir

\* Pha dung dịch gốc nồng độ 20 mM:

Oseltamivir 77,3 mg; Zanamivir: 66,5 mg.

Cho chất ức chế vào từng ống.

Thêm 10mL nước cất vô trùng vào mỗi ống, lắc cho đến khi tan hết bột.

Dùng lọc 0,22  $\mu$ m lọc từng dung dịch.

Chia dung dịch thành từng tuýp có thể tích 100 $\mu$ L, lưu tại -20 °C.

Pha dung dịch sử dụng trong phản ứng với các nồng độ như trong bảng:

STT ống	Thể tích dung dịch đệm 1X NA-Fluor	Thể tích chất ức chế Neuraminidase (NAI)	Nồng độ NAI sau pha loãng	Nồng độ NAI của phản ứng (nồng độ cuối)
1	19,96 mL	0,04 mL (40 $\mu$ L) từ dung dịch 20 mM NAI gốc	40.000 nM	10.000 nM
2	18 mL	2 mL từ ống 1	4000 nM	1000 nM
3	18 mL	2 mL từ ống 2	400 nM	100 nM
4	18 mL	2 mL từ ống 3	40 nM	10 nM
5	18 mL	2 mL từ ống 4	4 nM	1 nM
6	18 mL	2 mL từ ống 5	0,4 nM	0,1 nM
7	18 mL	2 mL từ ống 6	0,04 nM	0,01 nM

+ Chuẩn bị mẫu được thực hiện tại tủ an toàn sinh học trong khu vực làm việc với chủng vi rút.

\* Chủng cúm đã được phân lập trên tế bào hoặc trứng gà có phôi được lưu giữ tại

-70 °C đã có hiệu giá HA.

\* Pha loãng sau khi xác định mức độ hoạt động của neuraminidase hoặc sử dụng hiệu giá HA của vi rút

*b. Xác định tín hiệu ngưỡng của cơ chất (4-MU) và tín hiệu nền:* Theo hướng dẫn của nhà sản xuất

Xác định giá trị ngưỡng của cơ chất và tín hiệu nền cho máy đọc và bộ sinh phẩm cần được thực hiện một lần duy nhất khi bắt đầu sử dụng máy đọc và bộ sinh phẩm.

Tín hiệu ngưỡng được xác định tại nồng độ 10 µM và sử dụng để xác định mức độ hoạt động của neuraminidase.

*c. Xác định mức độ hoạt động của neuraminidase:* Theo hướng dẫn của nhà sản xuất

*d. Phản ứng ức chế neuraminidase:* Theo hướng dẫn của nhà sản xuất

Đọc và ghi kết quả vào Biểu mẫu kết quả xét nghiệm.

#### 4.1.2 Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm

- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.

- Mẫu sau xét nghiệm sẽ được lưu giữ tại PTN:

Mẫu	Điều kiện	Thời gian lưu (sau khi trả kết quả)
Chủng cúm	-70 °C	Ít nhất 10 năm

## 4.2. Nhận định kết quả

### 4.2.1 Xác định hiệu lực của lần xét nghiệm

- Giá trị ngưỡng của cơ chất và tín hiệu nền cho máy đọc và sinh phẩm NA-Fluor cần được thực hiện một lần duy nhất khi bắt đầu sử dụng máy đọc và bộ sinh phẩm.

- Các vi rút chứng có kết quả rõ ràng và đúng với kết quả của nhà sản xuất đưa ra.

### 4.2.2 Nhận định kết quả

Kết quả sau khi xác định giá trị IC<sub>50</sub> được nhận định dựa theo bảng nhận định kết quả của Tổ chức Y tế Thế giới.

Nhận định giá trị IC<sub>50</sub> của vi rút cúm

Kết quả	Cúm A	Cúm B
	Từ ngưỡng ức chế bình thường	
Thuốc ức chế vi rút mức bình thường	<10 lần	<5 lần
Giảm hiệu quả ức chế vi rút của	10-100 lần	5 - 50 lần

---

thuốc kháng vi rút

---



---

Giảm mạnh hiệu quả ức chế vi rút của thuốc kháng vi rút >100 lần > 50 lần

---

### 4.3 Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1 Trả kết quả

- Nhập kết quả xét nghiệm vào biểu mẫu <mã biểu mẫu> hoặc phần mềm <tên phần mềm>.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả xét nghiệm chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả xét nghiệm.
- Trả kết quả xét nghiệm cho đúng đối tượng yêu cầu xét nghiệm hoặc cơ quan/người có thẩm quyền.
- Trả kết quả xét nghiệm theo quy trình trả kết quả của đơn vị.

#### 4.3.2 Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Biểu mẫu chuẩn bị vi rút
2	Biểu mẫu pha hoá chất, sinh phẩm
3	Biểu mẫu kết quả xét nghiệm

#### 4.3.3 Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1 Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

- Chủng vi rút cúm: thể tích chủng vi rút không đủ để tiến hành xét nghiệm. Điều kiện bảo quản không đảm bảo, hiệu giá HA<8.
- Sinh phẩm hoá chất, vật tư tiêu hao bị nhiễm.
- Thiết bị đọc không được bảo dưỡng định kì.
- Chủng vi rút bị hỏng.

### 5.2 Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Hoá chất (dung dịch đệm, dung dịch thuốc kháng vi rút) pha chưa đúng nồng độ.



- Kỹ thuật pha loãng vi rút

- Phản ứng NAI bị nhỏ sai hoá chất trong các giếng, thứ tự nhỏ các hoá chất không đúng theo quy trình, nhiễm chéo giữa các giếng với nhau, quên pha loãng bậc 2 các mẫu, quên nhỏ hồng cầu chuẩn hoặc nhỏ nhầm hoá chất khác. Thời gian chờ hấp phụ các hoá chất bị sai...

### **5.3 Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Mẫu chứng không cho kết quả đúng ngưỡng

- Phiên giải kết quả: Vẫn thực hiện phiên giải khi các tiêu chí phản ứng không đạt yêu cầu, các bước thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các mẫu.

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

### **6.1 Nội kiểm**

Mỗi lần thực hiện xét nghiệm phải sử dụng chứng chuẩn vi rút kháng thuốc, chứng âm, các hoá chất, thuốc thử phải được pha mới.

### **6.2 Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng**

Tham gia Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng (nếu có)

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Viện vệ sinh dịch tễ Trung ương, “Xét nghiệm xác định vi rút cúm kháng thuốc bằng kỹ thuật ức chế neuraminidase (NAI)”, mã số VN05-VR03-QT5.5.5.

- US-CDC. Fluorescent Neuraminidase Inhibition Assay Protocol. 2011.

- VIDRL WHOCC RRR Procedure Manual. Fluometric Neuraminidase Inhibition Assay. 2011.

- Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza, WHO global influenza surveillance network, 2011.

- Marcel Jonges, Wai Ming Liu, Erhard van der Vries, et. al. Influenza Virus Inactivation for Studies of Antigenicity and Phenotypic Neuraminidase Inhibitor Resistance Profiling. J. Clin. Microbiol. 48(3):928-940. doi:10.1128/JCM.02045-09.

Quy trình kỹ thuật số 244:  
**QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM XÁC ĐỊNH TÍNH NHẠY CẢM  
KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN  
BẰNG KỸ THUẬT KHOANH GIẤY KHUẾCH TÁN**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Nhằm hướng dẫn thực hiện thử nghiệm tính nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh bằng kỹ thuật khoanh giấy khuếch tán kháng sinh trên thạch.

### **1.2. Định nghĩa**

Không áp dụng.

### **1.3. Nguyên lý**

Kháng sinh được tẩm vào đĩa giấy với nồng độ tiêu chuẩn sẽ khuếch tán ra mặt thạch chung quanh, ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn. Đường kính vòng vô khuẩn do vi khuẩn bị ức chế cho biết tính nhạy cảm của vi khuẩn đối với thuốc kháng sinh. Trường hợp không có vòng ức chế, vi khuẩn kháng lại thuốc kháng sinh.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Chuẩn bị mẫu và xét nghiệm: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.
- Xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.
- Tiết trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư**

#### **2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

##### *a. Đĩa kháng sinh*

- Đĩa kháng sinh là những đĩa giấy có đường kính 6mm được tẩm thuốc kháng sinh với nồng độ tiêu chuẩn.
- Đĩa kháng sinh được lưu giữ tại  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- Bộ kháng sinh sử dụng hằng ngày: để ở nhiệt độ  $(2 \div 8)\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- Khi thực hiện thử nghiệm kháng sinh đồ, đĩa kháng sinh phải lấy ra khỏi tủ mát  $(2 \div 8)\text{ }^{\circ}\text{C}$ , để ở nhiệt độ thường khoảng 15 phút.
- Tiêu chuẩn lựa chọn kháng sinh thử nghiệm được hướng dẫn chi tiết bởi Ủy Ban Quốc Gia về Tiêu chuẩn của Các Phòng thí nghiệm tại Mỹ - CLSI.
- Các đĩa kháng sinh được thử nghiệm trong kháng sinh đồ gồm:

**Nhóm tác nhân là Bacille Gram âm (*Enterobacterales*)**

- AK: Amikacin 30 µg
- AM: Ampicillin 10 µg
- AMC: Amoxicillin + clavulanic acid 20/10 µg
- CAZ: Ceftazidime 30 µg
- CIP: Ciprofloxacin 5 µg
- CXM: Cefuroxime 30 µg
- CZC: Ceftazidime+clavulanic acid 30/10µg
- FM<sup>(1)</sup>: Nitrofurantoin 1 300 µg
- FOS<sup>(2)</sup>: Fosfomycin 2 200 µg
- GM: Gentamicin 10µg
- IPM: Imipenem 10µg
- SXT: Trimethoprim-Sulfamethoxazole 1.25/23.75 µg
- TPZ: Piperacillin+tazobactam 100/10 µg

<sup>(1)</sup>: chỉ sử dụng cho bệnh phẩm nước tiểu.

<sup>(2)</sup>: chỉ sử dụng để báo cáo cho *E.coli* trong bệnh phẩm nước tiểu.

**Nhóm tác nhân là *Pseudomonas sp***

- AK<sup>(3)</sup>: Amikacin 30 µg
- ATM: Aztreonam 30 µg
- CAZ: Ceftazidime 30 µg
- CZA: Ceftazidime-avibactam 30/20µg
- CIP: Ciprofloxacin 5 µg
- FEP: Cefepime 30 µg
- IMR: Imipenem-relebactam 10/25 µg
- IPM: Imipenem 10µg
- LEV: Levofloxacin 5µg
- TPZ: Piperacillin+tazobactam 100/10µg

<sup>(3)</sup>: chỉ dùng cho bệnh phẩm nước tiểu.

**Nhóm tác nhân là *Acinetobacter sp***

- AK: Amikacin 30µg
- CAZ: Ceftazidime 30µg
- CTX: Cefotaxime 30µg
- DX: Doxycycline 30µg
- FEP: Cefepime 30µg
- GM: Gentamicin 10µg
- IPM: Imipenem 10µg
- LEV: Levofloxacin 15µg
- SAM: Ampicillin+Sulbactam 10/20µg
- SXT: Trimethoprim-Sulfamethoxazole 1.25/23.75µg
- TPZ: Piperacillin+tazobactam 100/10µg

**Nhóm tác nhân là *Streptococcus sp* nhóm viridans (D, F) và *Enterococcus sp*.**

- C: Chloramphenicol 30µg
- CM<sup>(4)</sup>: Clindamycin 2µg
- CTX: Cefotaxim 30µg
- E<sup>(5)</sup>: Erythromycin 15µg
- FEP: Cefepime 30µg
- LVX: Levofloxacin 5µg
- LNZ: Linezolid 30µg
- VA: Vancomycin 30µg



(4): Không sử dụng thường quy cho bệnh phẩm nước tiểu, kết quả được dùng trong trường hợp phụ nữ mang thai có dị ứng penicillin trong dự phòng nhiễm trùng trường hợp sinh mổ.

(5): Không sử dụng thường quy cho bệnh phẩm nước tiểu, kết quả chỉ được dùng để xác định ICR (Inducible Clindamycin Resistant) cho trường hợp phụ nữ mang thai có dị ứng penicillin dự phòng nhiễm trùng sinh mổ, chứ không báo cáo nhạy kháng.

**Nhóm tác nhân là *Streptococcus pneumoniae***

- CM<sup>(6)</sup>: Clindamycin 2µg
- CPT: Ceftriaxone 30µg
- DX: Doxycycline 30µg
- E<sup>(7)</sup>: Erythromycin 15µg
- LEV: Levofloxacin 5µg
- LNZ: Linezolid 30µg
- RA: Rifampin 5µg
- SXT: Trimethoprim-Sulfamethoxazole 1.25/23.75 µg
- TE: Tetracycline 30µg
- VA: Vancomycin 30µg

(6,7): Không sử dụng thường quy cho bệnh phẩm nước tiểu.

**Nhóm tác nhân là *b-Streptococcus sp* nhóm A, B, C, G**

- |   |                          |
|---|--------------------------|
| - CM <sup>(8)</sup> : Clindamycin 2 µg  | - LEV: Levofloxacin 5 µg |
| - CPT: Ceftriaxone 30 µg                | - LNZ: Linezolid 30 µg   |
| - CTX: Cefotaxime 30 µg                 | - P: Penicillin 10 units |
| - E <sup>(9)</sup> : Erythromycin 15 µg | - VA: Vancomycin 30 µg   |
| - FEP: Cefepime 30 µg                   |                          |

(8): Không sử dụng thường quy cho bệnh phẩm nước tiểu, kết quả được dùng trong trường hợp phụ nữ mang thai có dị ứng penicillin trong dự phòng nhiễm trùng trường hợp sinh mổ.

(9): Không sử dụng thường quy cho bệnh phẩm nước tiểu, kết quả chỉ được dùng để xác định ICR (Inducible Clindamycin Resistant) cho trường hợp phụ nữ mang thai có dị ứng penicillin dự phòng nhiễm trùng sinh mổ, không báo cáo nhạy kháng.

**Nhóm tác nhân là *Staphylococcus sp***

- |   |   |
|---|---|
| - CM <sup>(10)</sup> : Clindamycin 2 µg   | - P: Penicillin 10 Units                          |
| - CPT <sup>(11)</sup> : Ceftriaxone 30 µg | - LEV: Levofloxacin 5 µg                          |
| - E <sup>(12)</sup> : Erythromycin 15 µg  | - LNZ: Linezolid 30 µg                            |
| - FOX: Cefoxitin 30 µg                    | - SXT: Trimethoprim+Sulfamethoxazole 1.25/23/75µg |

<sup>(10)</sup>: Không sử dụng thường quy cho bệnh phẩm nước tiểu.

<sup>(11)</sup>: Chỉ dùng cho *S.aureus*.

<sup>(12)</sup>: Không sử dụng thường quy cho bệnh phẩm nước tiểu.

**Nhóm tác nhân là *Neisseria gonorrhoeae***

- CFM: Cefixime 5 µg
- CIP: Ciprofloxacin 5 µg
- CRO: Ceftriaxone 30 µg
- TE: Tetracycline 30 µg

**Nhóm tác nhân là *Neisseria meningitidis***

- AZM: Azithromycin 15 µg
- C: Chloramphenicol 30 µg
- CIP: Ciprofloxacin 5 µg
- CRO: Ceftriaxone 30 µg
- RA: Rifampin 5 µg

**Nhóm tác nhân là *Haemophilus sp***

- AM: Ampicillin 10 µg
- AMC: Amoxicillin+clavu 20/10 µg
- ATM: Aztreonam 30 µg
- AZM: Azithromycin 15 µg
- CAZ: Ceftazidime 30 µg
- CEC: Cefaclor 30 µg
- SXT: Trimethoprim + Sulfamethoxazole 1.25/23.75 µg
- CIP: Ciprofloxacin 5 µg
- CPT<sup>(13)</sup>: Ceftarolin 30 µg
- IPM: Imipenem 10 µg
- RA<sup>(14)</sup>: Rifampin 5 µg
- SAM: Ampicilline+sulbactam 10/10 µg
- CFM: Cefixime 5 µg

<sup>(13)</sup>: chỉ dùng cho *H.influenzae*

<sup>(14)</sup>: chỉ dùng để điều trị dự phòng

**b. Môi trường**

- Môi trường nuôi cấy: Thạch máu, thạch chocolate, thạch EMB (EpsilonMethylen Blue), thạch Hektoen, thạch TSA (Trypticase soy agar), thạch BCP (Bromocresol Purple), BHI broth.

- Môi trường tiêu chuẩn là môi trường Muller Hinton Agar –MHA.

- Môi trường MHA sẽ thêm vào các chất bổ sung khi có yêu cầu:

+ Để thử nghiệm tính nhạy cảm kháng sinh cho *Streptococci*, *Neisseria meningitidis*, *Campylobacter* cần thêm vào 5% máu cừu.

+ Để thử nghiệm tính nhạy cảm kháng sinh cho *Neisseria gonorrhoeae*: sử dụng môi trường GC Agar base và 1% chất bổ sung; *Haemophilus*: sử dụng môi trường HTM Agar.

- Môi trường được đổ vào hộp petri với bề dày của thạch là 3,5-4mm. Bảo quản trong các hộp plastic và đặt trong tủ mát 2-8<sup>0</sup>C. Trước khi dùng, phải lấy ra khỏi tủ lạnh và để cho đến khi đạt được nhiệt độ phòng.

- Nếu trước khi dùng, trên mặt thạch quá ẩm thì nên để hộp thạch hé nắp ở tủ ấm (35<sup>0</sup>C) hay trong buồng khí lưu cho đến khi khô mặt (từ 10-30 phút). Khi trải vi khuẩn, mặt thạch nên ẩm nhưng không có nước đọng trên mặt và cả trên nắp đậy.

#### c. Dùng cho nội kiểm, ngoại kiểm, hóa chất chuẩn, tham chiếu

- Vi khuẩn kiểm chứng: Là các dòng vi khuẩn chưa hề có biểu hiện kháng thuốc đối với tất cả các loại thuốc kháng sinh được dùng để kiểm tra chất lượng của môi trường và chất lượng của các đĩa kháng sinh được dùng trong thực hiện thử nghiệm nhạy cảm kháng sinh. Trong phương pháp kháng sinh đồ đĩa giấy Kirby-Bauer, các vi khuẩn thường được dùng là:

- + *Escherichia coli* ATCC 25922
- + *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- + *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- + *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226
- + *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619
- + *Haemophilus influenzae* ATCC 49247

- Các dòng vi khuẩn kiểm chứng (chủng gốc) được cấy trên các môi trường dinh dưỡng (có thêm chất bổ sung nếu cần), được lưu giữ trong môi trường BHI + 20% glycerol, bảo quản -70<sup>0</sup>C để tránh đột biến kháng thuốc.

- Cất giữ trong thời gian ngắn bằng cách cấy trên môi trường TSA hoặc môi trường chuyên biệt và giữ ở (2 ÷ 8) <sup>0</sup>C. Chủng dùng để thực hiện kháng sinh đồ nên thực hiện trên chủng mới cấy chuyển từ (2 ÷ 4) tuần tùy loại vi khuẩn.

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Đèn cồn
- Que cấy
- Khăn giấy
- Lam kính
- Bộ thuốc nhuộm Gram
- Dầu soi
- Găng tay, khẩu trang
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...



### 2.3. Thiết bị

- Bộ dụng cụ dập kháng sinh: phân phối đĩa kháng sinh lên thạch hoặc kẹp gấp kháng sinh.

- Thước kẹp đo đường kính vòng vô khuẩn.

- Máy đo độ đục chuẩn để chuẩn độ đục vi khuẩn: ít nhất hai năm một lần, phải hiệu chuẩn máy đo độ đục vi khuẩn tại McFarland 0.5, McFarland 1.0, McFarland 2.0, McFarland 4.0 hoặc dùng bộ đo độ đục McFarland chuẩn để chuẩn lại độ đục của máy.

- Tủ an toàn sinh học

- Máy vortex

- Tủ mát ( $2 \div 8$ ) °C

- Tủ ấm ( $35 \pm 2$ ) °C

- Tủ âm -20 °C

- Kính hiển vi

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có

2.4.1. Đối với QTKT lấy mẫu bệnh phẩm hoặc mẫu xét nghiệm

Không áp dụng.

2.4.2. Đối với QTKT về thực hiện xét nghiệm (chuẩn bị mẫu hoặc mẫu bệnh phẩm trước khi xét nghiệm)

- Mẫu đầu vào là đĩa thạch môi trường đã có khúm khuẩn tăng sinh từ mẫu bệnh phẩm cần xác định tính nhạy cảm kháng sinh.

- Có khúm khuẩn tách rời.

### 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm nếu có

- Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm gồm: thông tin bệnh nhân (họ tên, năm sinh, giới tính, địa chỉ), chỉ định, bác sĩ chỉ định, thời gian lấy mẫu, thời gian nhận mẫu.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

- Ước tính: 0.44 giờ/mẫu xét nghiệm.

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng xét nghiệm.

## 3. AN TOÀN

- Thử nghiệm nhạy cảm kháng sinh được tiến hành trên những mẫu dương tính. Vì vậy, người thực hiện cần mang găng tay, mặc áo choàng.

- Thực hiện các quy định về an toàn sinh học theo Sổ tay an toàn sinh học phòng xét nghiệm.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Chuẩn bị mầm cấy

- Phương pháp tăng sinh để pha huyền dịch vi khuẩn như sau:

+Trên mặt thạch phân lập, chọn ít nhất từ 3-5 khuẩn vi khuẩn giống nhau và tách rời. Dùng vòng cấy chạm vào mỗi khuẩn vi khuẩn rồi cấy chuyển vào 4-5mL môi trường lỏng thích hợp như Brain Heart Infusion.

+Ủ canh cấy lỏng này ở  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  cho đến khi đạt được hay hơn độ đục chuẩn McFarland 0.5 (thường từ 2-6 giờ). Huyền dịch vi khuẩn như vậy có chứa khoảng 1 đến  $2 \times 10^8$  CFU/mL (CFU: Colony Forming Unit, đơn vị tạo khuẩn: vi khuẩn sống).

+Dùng môi trường lỏng hay nước muối sinh lý vô khuẩn để điều chỉnh độ đục của canh cấy vi khuẩn đang tăng trưởng này đến độ đục chuẩn McFarland 0.5 bằng máy đo độ đục.

- Pha huyền dịch vi khuẩn trực tiếp từ khuẩn vi khuẩn:

+Cũng thuận tiện như phương pháp tăng sinh, có thể pha huyền dịch vi khuẩn trong môi trường lỏng hay trong nước muối sinh lý 0.85% trực tiếp từ các khuẩn vi khuẩn mọc trên mặt thạch nuôi cấy đã ủ 18-24 giờ (nên dùng thạch không chọn lọc). Điều chỉnh huyền dịch vi khuẩn đạt độ đục chuẩn McFarland 0.5 bằng máy đo độ đục.

+Đây là cách được chọn để thử nghiệm kháng sinh đồ các vi khuẩn khó mọc như *Haemophilus spp*, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* và thử nghiệm vi khuẩn *Staphylococci* có khả năng kháng methicillin hay oxacillin.

+Dùng huyền phù vi khuẩn ngay trong vòng 15 phút sau khi chuẩn độ đục.

#### 4.1.2. Pha loãng mầm cấy

- Sau khi đo McFarland, huyền phù vi khuẩn được độ đục mong muốn thì pha loãng mầm cấy theo bảng dưới đây:

Vi khuẩn	Đo McFarland/Mật độ	Pha loãng/Mật độ
<i>Enterobacteriales</i> , <i>Bacille</i> không lên men ( <i>P. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter spp</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , . . .) <i>Staphylococcus spp</i> , <i>Enterococcus spp</i>	McFarland 0,5 ( $10^8$ CFU/mL)	1/100 ( $10^6$ CFU/mL)
<i>Staphylococcus</i> cho thử nghiệm Oxacillin	McFarland 0,5 ( $10^8$ CFU/mL)	1/10 ( $10^7$ CFU/mL)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus spp</i>	McFarland 0,5 ( $10^8$ CFU/mL)	1/10 ( $10^7$ CFU/mL)
<i>Haemophilus influenzae</i>	McFarland 0,5 ( $10^7$ CFU/mL)	1/10 ( $10^6$ CFU/mL)
<i>Neisseria meningitidis</i>	McFarland 0,5	Không pha loãng

Vi khuẩn	Đo McFarland/Mật độ	Pha loãng/Mật độ
	(10 <sup>6</sup> CFU/mL)	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	McFarland 1 (108 CFU/mL) McFarland 0,5 (106 CFU/mL)	1/100 (10 <sup>6</sup> CFU/mL) Không pha loãng

#### 4.1.3. Láng mầm cấy và đặt đĩa kháng sinh

- Sau khi pha loãng huyền phù vi khuẩn, láng đều trên môi trường đã chuẩn bị làm thử nghiệm nhạy cảm.

- Chờ mặt thạch khô

- Dùng bộ dụng cụ phân phối kháng sinh, đặt kháng sinh cách đều nhau trên mặt thạch, dùng kháng sinh theo từng nhóm vi khuẩn như trên.

- Trong vòng 15 phút sau khi đặt đĩa kháng sinh, phải ủ hộp thạch trong tủ ẩm 35°C±2, 16-18 giờ.

- Đối với các vi khuẩn *Haemophilus*, *S. pneumoniae*, *Nesseria* cần khí trường CO<sub>2</sub>, vì vậy ủ bình nền.

- Thử nghiệm sàng lọc cho beta-lactamase theo hướng dẫn của phòng xét nghiệm.

- Thử nghiệm sàng lọc kháng Clindamycin (D-tets) theo hướng dẫn của phòng xét nghiệm.

- Thử nghiệm sàng lọc *Staphylococcus non aureus*/*Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRS/MRSA) theo hướng dẫn của phòng xét nghiệm.

#### Chú ý:

Kháng sinh khuếch tán ngay khi tiếp xúc với thạch, vì vậy không dời chỗ kháng sinh khi đã đặt lên môi trường.

### 4.2. Nhận định kết quả

#### 4.2.1 Xác định hiệu lực của lần xét nghiệm

- Quan sát hộp thạch với các dòng vi khuẩn kiểm chứng ATCC:

+Vi khuẩn mọc tốt: môi trường nuôi cấy và làm kháng sinh đồ đạt yêu cầu

+Các đường kính vòng vô khuẩn đối với các kháng sinh đạt tiêu chuẩn quy định: chứng tỏ đĩa kháng sinh có chất lượng tốt và còn hiệu lực hoạt động, ghi nhận vào biểu mẫu:

• Phiếu tiến trình làm việc

• Biểu đồ QC kháng sinh đồ, theo từng Quý/năm.

#### 4.2.2. Nhận định kết quả

- Quan sát hộp thạch với các vi khuẩn thử nghiệm:



+Có 3 mức độ nhạy cảm kháng sinh:

- Nhạy cảm (Susceptible)
- Trung gian (Intermediate)
- Kháng (Resistant)

+Xung quanh đĩa kháng sinh không có vòng vô khuẩn. Kết luận: vi khuẩn kháng với loại kháng sinh đó.

+Xung quanh đĩa kháng sinh có vòng trong suốt, là vòng vô khuẩn, là nơi dưới tác động của kháng sinh, vi khuẩn không tăng trưởng được. Trường hợp này, ta phải đo đường kính vòng vô khuẩn (tính thành milimet). Sau đó, so sánh với đường kính vòng vô khuẩn chuẩn được trình bày trong bảng hướng dẫn của CLSI bên dưới.

- Ghi nhận kết quả nhạy cảm kháng sinh vào biểu mẫu phiếu tiến trình làm việc.

**Bảng 1:** Các tiêu chuẩn biện luận đường kính vòng vô khuẩn của các loại vi khuẩn là *Bacille Gram âm Enterobacterales* (CLSI 2024)

Đĩa kháng sinh	Nồng độ	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
1. AK	30 mg	≤16	17-19	<sup>3</sup> 20
2. AMC ( <sup>15</sup> )	20/10mg	≤ 13	14-17	<sup>3</sup> 18
3. AM	10mg	≤ 13	14-16	<sup>3</sup> 17
4. FEP	30μg	≤ 18	19-24	<sup>3</sup> 25
5. CAZ	30mg	≤ 17	18-20	<sup>3</sup> 21
6. CZC ( <sup>16</sup> )	10/30mg	-	-	-
7. CXM	30mg	≤14	15-22	<sup>3</sup> 23
8. CIP	5mg	≤ 21	22-25	<sup>3</sup> 26
9. FOS	200mg	≤ 12	13-15	<sup>3</sup> 16
10. GM	10mg	≤14	15-17	<sup>3</sup> 18
11. IPM	10mg	≤ 19	20-22	<sup>3</sup> 23
12. F	300mg	≤14	15-16	<sup>3</sup> 17
13. 14.TPZ	100/10mg	≤ 20	-	<sup>3</sup> 25

Đĩa kháng sinh	Nồng độ	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
14. SXT	1.25/23.75mg	≤ 10	11-15	<sup>3</sup> 16

(<sup>15</sup>), (<sup>16</sup>): Xem hướng dẫn thực thực hiện phát hiện vi khuẩn sinh men  $\beta$ -lactamase phổ rộng.

**Bảng 2:** Các tiêu chuẩn biện luận đường kính vòng vô khuẩn của các loại vi khuẩn là *Pseudomonas sp* (CLSI 2024)

Đĩa kháng sinh	Nồng độ	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
1. AK	30mg	≤14	15-16	<sup>3</sup> 17
2. ATM	30mg	≤15	16-21	<sup>3</sup> 22
3. FEP	30mg	≤14	15-17	<sup>3</sup> 18
4. CAZ	30mg	≤14	15-17	<sup>3</sup> 18
5. CIP	5mg	≤15	16-20	<sup>3</sup> 21
6. CZA	30/20mg	≤20	-	<sup>3</sup> 21
7. IPM	10mg	≤15	16-18	<sup>3</sup> 19
8. IMR	10/25mg	≤19	20-22	<sup>3</sup> 23
9. LEV	5mg	≤13	14-16	<sup>3</sup> 17
10. TPZ	100/10mg	≤14	15-20	<sup>3</sup> 21

**Bảng 3:** Các tiêu chuẩn biện luận đường kính vòng vô khuẩn của các loại vi khuẩn là *Acinetobacter sp* (CLSI 2024)

Đĩa kháng sinh	Nồng độ	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
1. AK	30mg	≤14	15-16	<sup>3</sup> 17
2. SAM	10/10mg	≤11	12-14	<sup>3</sup> 15

*Handwritten signature*

*Handwritten signature*

Đĩa kháng sinh	Nồng độ	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
3. FEP	30mg	≤14	15-17	<sup>3</sup> 18
4. CTX	30mg	≤14	15-22	<sup>3</sup> 23
5. CAZ	30mg	≤14	15-17	<sup>3</sup> 18
6. DX	30mg	≤09	10-12	<sup>3</sup> 13
7. GM	10 mg	≤12	13-14	<sup>3</sup> 15
8. IPM	10 mg	≤18	19-21	<sup>3</sup> 22
9. LEV	5 mg	≤13	14-16	<sup>3</sup> 17
10. TPZ	100/10 mg	≤17	18-20	<sup>3</sup> 21
11. SXT	1.25/23.75 mg	≤10	11-15	<sup>3</sup> 16

**Bảng 4:** Các tiêu chuẩn biện luận đường kính vòng vô khuẩn của các loại vi khuẩn là *Streptococcus sp* nhóm *viridans* (D, F) và *Enterococcus sp* (CLSI 2024)

Đĩa kháng sinh	Nồng độ	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
1. FEP	30 mg	≤21	22-23	<sup>3</sup> 24
2. CTX	30 mg	≤25	26-27	<sup>3</sup> 28
3. C	30 mg	≤17	18-20	<sup>3</sup> 21
4. CM	2 mg	≤15	16-18	<sup>3</sup> 19
5. E	15 mg	≤15	16-20	<sup>3</sup> 21
6. LEV	5 mg	≤13	14-16	<sup>3</sup> 17
7. LNZ	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 21
8. VA	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 17

**Bảng 5:** Các tiêu chuẩn biện luận đường kính vòng vô khuẩn của các loại vi khuẩn là *Streptococcus pneumoniae* (CLSI 2024)



Đĩa kháng sinh	Nồng độ	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
1. CPT	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 26
2. CM	2 mg	≤15	16-18	<sup>3</sup> 19
3. DX	30 mg	≤24	25-27	<sup>3</sup> 28
4. E	15 mg	≤15	16-20	<sup>3</sup> 21
5. LEV	5 mg	≤13	14-16	<sup>3</sup> 17
6. LNZ	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 21
7. RA	5 mg	≤16	17-18	<sup>3</sup> 19
8. SXT	1.25/23.75 mg	≤15	16-18	<sup>3</sup> 19
9. TE	30 mg	≤24	25-27	<sup>3</sup> 28
10. VA	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 17

**Bảng 6:** Các tiêu chuẩn biện luận đường kính vòng vô khuẩn của các loại vi khuẩn là *b-Streptococcus sp* (nhóm A, B, C, G) (CLSI 2024)

Đĩa kháng sinh	Nồng độ	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
1. FEP	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 24
2. CTX	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 24
3. CPT	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 26
4. CM	2 mg	≤15	16-18	<sup>3</sup> 19
5. E	15 mg	≤15	16-20	<sup>3</sup> 21
6. LEV	5 mg	≤13	14-16	<sup>3</sup> 17
7. LNZ	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 21
8. P	10 Units	-	-	<sup>3</sup> 24

*Handwritten signatures*

Đĩa kháng sinh	Nồng độ	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
9. VA	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 17

**Bảng 7:** Các tiêu chuẩn biện luận đường kính vòng vô khuẩn của các loại vi khuẩn là *Staphylococcus sp* (CLSI 2024)

Đĩa kháng sinh	Nồng độ	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
1. FOX	30 mg	$\leq 21$	-	<sup>3</sup> 22
2. CPT	30 mg	$\leq 19$	20-24	<sup>3</sup> 25
3. CM	2 mg	$\leq 14$	15-20	<sup>3</sup> 21
4. E	15 mg	$\leq 13$	14-22	<sup>3</sup> 23
5. LEV	5 mg	$\leq 15$	16-18	<sup>3</sup> 19
6. LNZ	30 mg	$\leq 20$	-	<sup>3</sup> 21
7. P	10 Units	$\leq 28$	-	<sup>3</sup> 29
8. SXT	1.25/23.75 mg	$\leq 10$	11-15	<sup>3</sup> 16

**Bảng 8:** Các tiêu chuẩn biện luận đường kính vòng vô khuẩn của các loại vi khuẩn là *Neisseria gonorrhoeae* (CLSI 2024)

Đĩa kháng sinh	Nồng độ	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
1. CFM	5 mg	-	-	<sup>3</sup> 31
2. CRO	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 35
3. CIP	5 mg	$\leq 27$	28-40	<sup>3</sup> 41
4. TE	30 mg	$\leq 30$	31-37	<sup>3</sup> 38

**Bảng 9:** Các tiêu chuẩn biện luận đường kính vòng vô khuẩn của các loại vi khuẩn là *Neisseria meningitidis* (CLSI 2024)

Đĩa kháng sinh	Nồng độ	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
1. AZM	15 mg	-	-	<sup>3</sup> 20
2. CRO	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 34
3. C	30 mg	≤19	20-25	<sup>3</sup> 26
4. CIP	15 mg	≤32	33-34	<sup>3</sup> 35
5. RA	5 mg	≤19	20-24	<sup>3</sup> 25

**Bảng 10:** Các tiêu chuẩn biện luận đường kính vòng vô khuẩn của các loại vi khuẩn là *Haemophilus sp* (CLSI 2023)

Đĩa kháng sinh	Nồng độ	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
1. AMC	20/10 mg	≤19	-	<sup>3</sup> 20
2. SAM	10/10 mg	≤19	-	<sup>3</sup> 20
3. AM	10 mg	≤18	19-21	<sup>3</sup> 22
4. AZM	15 mg	-	-	<sup>3</sup> 12
5. ATM	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 26
6. CEC	30 mg	≤16	17-19	<sup>3</sup> 20
7. CFM	5 mg	≤21	-	-
8. CPT	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 30
9. CAZ	30 mg	-	-	<sup>3</sup> 26
10. CIP	15 mg	-	-	<sup>3</sup> 21
11. IPM	10 mg	-	-	<sup>3</sup> 16
12. RA	5 mg	≤16	17-19	<sup>3</sup> 20
13. SXT	1.25/23.75 mg	≤10	11-15	<sup>3</sup> 16

*Handwritten signatures*



### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Trả kết quả theo quy trình của phòng xét nghiệm.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Biểu mẫu phiếu tiến trình làm việc
2	Biểu mẫu biểu đồ QC kháng sinh đồ theo Quý/năm.

#### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm.

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật:

Không áp dụng

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Khi kháng sinh thực hiện trên chủng chuẩn không đạt, vượt khỏi ngưỡng trên và dưới so với chủng chuẩn, không được báo cáo kết quả kháng sinh này cho bệnh nhân, cần kiểm tra lại: lô môi trường, nồng độ đĩa kháng sinh, hạn sử dụng của kháng sinh, độ đục huyền phù vi khuẩn, độ pha loãng, . . . và thực hiện lại thử nghiệm nhạy cảm kháng sinh đối với kháng sinh này.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật:

Không áp dụng.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm chất lượng

- Sử dụng chủng chuẩn để kiểm tra chất lượng môi trường và đĩa kháng sinh.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

- Tham gia chương trình Ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Clinical and Laboratory Standards Institute (2024). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, CLSI Supplement M100.

- Phạm Hùng Vân – Phạm Thái Bình (2013). Kháng sinh – Đề kháng kháng sinh, kỹ thuật kháng sinh đồ, các vấn đề cơ bản thường gặp. Nhà xuất bản Y học.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 245:****XÉT NGHIỆM XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ KHÁNG SINH TỐI THIỂU ỨC CHẾ VI KHUẨN GÂY BỆNH (MIC) TRÊN MÔI TRƯỜNG ĐẶC CHO MỘT LOẠI KHÁNG SINH****1. ĐẠI CƯƠNG****1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn cách xác định mức độ nhạy cảm và nồng độ ức chế tối thiểu của kháng sinh với chủng vi khuẩn gây bệnh, mà tại đó ức chế sự phát triển của vi khuẩn.

**1.2. Định nghĩa**

- MIC (Minimal inhibitory concentration) : nồng độ ức chế tối thiểu
- S (Susceptible): Nhạy cảm
- I (Intermediate): Trung gian
- R (Resistant): Đề kháng
- PXN: phòng xét nghiệm
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
- EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- ATSH: An toàn sinh học

**1.3. Nguyên lý**

Xét nghiệm MIC pha loãng thạch là một phương pháp xác định mức độ nhạy cảm và nồng độ ức chế tối thiểu của kháng sinh với chủng vi khuẩn. Một loạt các đĩa thạch, mỗi đĩa chứa một nồng độ duy nhất của một chất kháng khuẩn. Sau khi ủ với điều kiện thích hợp cho các vi khuẩn thử nghiệm, MIC được xác định bằng cách quan sát nồng độ thấp nhất của kháng sinh ức chế sự phát triển nhìn thấy của mỗi xét nghiệm phân lập. Giá trị MIC sẽ được phiên giải ra phân loại S (Susceptible – nhạy cảm), I (intermediate – trung gian), hoặc R (resistant – đề kháng) khi so sánh với bảng chuẩn CLSI cập nhật hàng năm.

**2. CHUẨN BỊ****2.1. Người thực hiện**

- Chuẩn bị: nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Chuẩn bị kháng sinh: nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Chuẩn bị môi trường thạch: nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Pha huyền dịch vi khuẩn: nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học

sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

- Diễn giải và báo cáo kết quả: nhân sự trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Quản lý dữ liệu PXN: nhân sự trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Đảm bảo an toàn sinh học, quản lý chất lượng, khử trùng: nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

## 2.2. Vật tư:

- Môi trường Muller Hinton bột
- Kháng sinh bột
- 01 chủng chuẩn
- Que cấy
- Que tăm bông vô trùng
- Ống nghiệm
- Khẩu trang
- Găng tay Panh
- Nước muối sinh lý
- Dung dịch rửa tay
- Khăn giấy
- Côn 90
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

## 2.3. Thiết bị

- Tủ ấm hoặc tủ ấm CO<sub>2</sub>.
- Tủ an toàn sinh học cấp 2.
- Máy lắc.
- Ống độ đục chuẩn McFarland 0,5 hoặc máy đo độ đục.
- Thiết bị làm MIC

## 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có

- Loại mẫu xét nghiệm: chủng vi khuẩn.
- Chủng vi khuẩn phải được cấy thuần trước khi thực hiện.



**2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

Không áp dụng.

**2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Tổng thời gian thực hiện toàn bộ quy trình: 4,26 giờ.

**2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Thực hiện tại phòng xét nghiệm.

**3. AN TOÀN**

- Thao tác trong tủ an toàn sinh học cấp 2.
- Quy định về bảo đảm an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm theo nghị định 103/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 07 năm 2016.
- Quy định về thực hành bảo đảm an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm theo thông tư 37/2017/TT-BYT ngày 25 tháng 09 năm 2017.
- Quy định về quản lý mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm theo thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018.
- Quy định về quản lý chất thải y tế theo Thông tư 20/2021/TT-BYT của Bộ Y tế quy định về quản lý chất thải y tế trong phạm vi khuôn viên cơ sở y tế.

**4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH****4.1. Các bước thực hiện****4.1.1. Cây chồi chủng vi khuẩn**

Chủng vi khuẩn cần thử nghiệm và chủng chuẩn được nuôi cấy thuần trong điều kiện tối ưu và đang ở giai đoạn phát triển mạnh (nuôi cấy sau 16 – 24 giờ).

**4.1.2. Chuẩn bị kháng sinh**

- Chuẩn bị dung dịch stock kháng sinh tối thiểu đạt được nồng độ 1000ug/mL (ví dụ 1280 ug/mL) hoặc 10 lần nồng độ cao nhất cần thử nghiệm.
- Chú ý: khuyến cáo của nhà sản xuất cho dung môi hoà tan kháng sinh hoặc tham khảo Bảng 6A, CLSI M100.

**4.1.3. Chuẩn bị môi trường thạch**

- Môi trường thạch MHA được cân, nấu tan, khử khuẩn bằng autoclave và phân ra các ống nghiệm nhỏ.
- Đặt các chai môi trường vào nồi hấp cách thủy 500C cho ổn định.
- Pha loãng kháng sinh từ stock theo bậc 2.
- Pha loãng kháng sinh trong môi trường với tỉ lệ 1:10 với các độ pha loãng kháng sinh khác nhau.

- Đồng thời cũng chuẩn bị ít nhất 2 hộp thạch không có KS để kiểm chứng: khả năng phát triển và môi trường đảm bảo vô trùng.

**4.1.4. Pha huyền dịch vi khuẩn**

- Tạo huyền dịch VK có độ đục ngang với độ đục của ống Mc Farland 0,5 (tương đương 108 CFU/mL).

- Dùng thiết bị làm MIC đập chùng lên đĩa thạch. Thời gian nuôi cấy: các hộp thạch khi cấy xong được ủ ở  $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$  từ (16 – 24) giờ.

#### 4.1.5. Đọc kết quả MIC

### 4.2. Nhận định kết quả

- Chỉ đọc kết quả kháng sinh đồ chùng người bệnh khi kết quả thực hiện trên chùng chuẩn đạt.

- Sử dụng chùng chuẩn để kiểm tra độ tin cậy của kết quả thí nghiệm. Ghi nhận nồng độ kháng sinh thấp nhất ức chế sự phát triển của vi khuẩn ( $\mu\text{g/mL}$ ).

- Khi nồng độ ức chế tối thiểu của các kháng sinh lên chùng chuẩn nằm trong khoảng cho phép thì kết quả thí nghiệm là đáng tin cậy

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Ghi chép vào sổ và các biểu mẫu liên quan đến quy trình và lưu trữ hồ sơ.

#### 4.3.1. Trả kết quả

Trả kết quả xét nghiệm theo quy trình trả kết quả.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu Kết quả kháng sinh đồ

#### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

TT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu Kết quả kháng sinh đồ	PXN	Bảng giấy	Theo quy định lưu trữ hồ sơ

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Không đọc kết quả khi kết quả thực hiện trên chùng chuẩn không đạt

- Quy trình này chỉ áp dụng cho các chùng vi khuẩn hiếu kỵ khí tùy tiện để nuôi cấy, không áp dụng cho các vi khuẩn kỵ khí bắt buộc. Sai sót có thể gặp khi:

+ Lẫn hai hay nhiều chùng vi khuẩn.

+ Vi khuẩn mọc quá dày hoặc quá thưa.

- Phải tiến hành làm lại khi thấy các hiện tượng như trên.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Yếu tố ảnh hưởng

Các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm bao gồm:

- Chủng vi khuẩn gây bệnh: bị nhiễm một hoặc nhiều loại vi khuẩn khác.
- Chủng chuẩn: bị nhiễm một hoặc nhiều loại vi khuẩn khác.
- Môi trường thạch: bị nhiễm hoặc không đạt yêu cầu (quá dày hoặc quá mỏng).
- Độ đục huyền phù: không đạt yêu cầu McFarland 0,5.
- Sinh phẩm, vật tư tiêu hao bị nhiễm.
- Phiên giải kết quả: Vẫn thực hiện phiên giải khi các tiêu chí phản ứng không đạt yêu cầu, các bước thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các chủng vi khuẩn.

#### **Kiểm soát nguyên vật liệu, trang thiết bị và điều kiện môi trường**

- Các nguyên vật liệu trước khi đưa vào sử dụng đã được kiểm tra chất lượng.
- Tủ ấm phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.
- Các trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ và trong thời hạn hiệu chuẩn (nếu phù hợp).
- Điều kiện môi trường của PXN phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.

#### **6.2. Kiểm soát mẫu xét nghiệm**

Chủng phải đảm bảo thuần thuần và mới.

#### **6.3. Kiểm soát bằng chủng chuẩn**

Mỗi lần thực hiện phải sử dụng chủng chuẩn theo khuyến cáo của CLSI đối với từng tác nhân.

#### **6.4. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù:**

Tham gia chương trình ngoại kiểm: tùy theo chương trình tham gia tại phòng thí nghiệm.

### **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Performance standards for antimicrobial susceptibility test - Eighteenth informational supplement, Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS).



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 246:

**XÉT NGHIỆM XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ KHÁNG SINH TỐI THIỂU  
ỨC CHẾ VI KHUẨN GÂY BỆNH (MIC) BẰNG KỸ THUẬT  
BĂNG GIẤY ETEST CHO MỘT LOẠI KHÁNG SINH**

**1. ĐẠI CƯƠNG**

**1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn cách các định mức độ nhạy cảm và nồng độ ức chế tối thiểu của kháng sinh với chủng vi khuẩn gây bệnh.

**1.2. Định nghĩa**

- MIC (Minimal inhibitory concentration) : nồng độ ức chế tối thiểu
- S (Susceptible): Nhạy cảm
- I (Intermediate): Trung gian
- R (Resistant): Đề kháng
- PXN: phòng xét nghiệm
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
- EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- ATSH: An toàn sinh học

**1.3. Nguyên lý**

Băng giấy Etest là thanh giấy chất lượng cao được tẩm với dải gradient nồng độ kháng sinh theo  $\mu\text{g/mL}$  được xác định. Khi băng giấy Etest được đặt lên mặt thạch đã dàn vi khuẩn, kháng sinh ở có bậc nồng độ nhanh chóng khuếch tán trong thạch. Sau khi nuôi cấy qua đêm, sẽ xuất hiện vùng ức chế hình elip đối xứng qua băng giấy. Giá trị MIC được xác định trực tiếp tại điểm cắt của hình elip với băng giấy Etest. Giá trị MIC sẽ được phiên giải ra phân loại S (Susceptible – nhạy cảm), I (intermediate – trung gian), hoặc R (resistant – đề kháng) khi so sánh với bảng chuẩn CLSI cập nhật hàng năm.

**2. CHUẨN BỊ**

**2.1. Người thực hiện**

- Chuẩn bị: 01 nhân sự Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Pha huyền dịch vi khuẩn: 01 nhân sự Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Đặt kháng sinh: 01 nhân sự Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Diễn giải và báo cáo kết quả: 01 nhân sự Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên

môn.

- Quản lý dữ liệu PXN: 01 nhân sự Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Đảm bảo an toàn sinh học, quản lý chất lượng, khử trùng: 01 nhân sự Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

## 2.2. Vật tư:

- Băng giấy Etest
- Đĩa môi trường cấy chuyên
- Đĩa thạch Muller Hinton (5% máu cừu hoặc không)
- Tối thiểu 01 chủng chuẩn
- Que cấy
- Que tăm bông vô trùng
- Ống nghiệm
- Khẩu trang
- Găng tay
- Panh
- Nước muối sinh lý
- Khăn giấy
- Cồn 90
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

## 2.3. Thiết bị

- Tủ âm hoặc tủ âm CO<sub>2</sub>.
- Tủ an toàn sinh học cấp 2.
- Máy lắc.
- Ống độ đục chuẩn McFarland 0,5 hoặc máy đo độ đục.

## 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có

- Loại mẫu xét nghiệm: chủng vi khuẩn.
- Chủng vi khuẩn phải được cấy thuần trước khi thực hiện.

## 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Không áp dụng

## 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện toàn bộ quy trình: 2,67 giờ.

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Đơn vị áp dụng: các cơ sở y tế

## 3. AN TOÀN

- Thao tác trong tủ an toàn sinh học cấp 2.
- Quy định về bảo đảm an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm theo nghị định 103/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 07 năm 2016.
- Quy định về thực hành bảo đảm an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm theo thông tư 37/2017/TT-BYT ngày 25 tháng 09 năm 2017.
- Quy định về quản lý mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm theo thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018.
- Quy định về quản lý chất thải y tế theo Thông tư 20/2021/TT-BYT của Bộ Y tế quy định về quản lý chất thải y tế trong phạm vi khuôn viên cơ sở y tế.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

- Chủng vi khuẩn cần thử nghiệm và chủng chuẩn được nuôi cấy thuần trong điều kiện tối ưu và đang ở giai đoạn phát triển mạnh (nuôi cấy sau 16 ÷ 24 giờ).
- Pha huyền dịch vi khuẩn: Dùng que cấy lấy vi khuẩn từ 3 ÷ 5 khuẩn lạc hòa tan đều vào ống nước muối sinh lý 5 mL, lắc đều trên máy lắc để có huyền dịch đồng nhất. So sánh độ đục hoặc đo huyền dịch vi khuẩn tương ứng với độ đục của ống McFarland 0,5.
- Dàn đều canh khuẩn lên mặt đĩa thạch: Dùng tăm bông vô trùng nhúng vào ống huyền dịch vi khuẩn đã pha ở trên, ép nhẹ và xoay tròn tăm bông trên thành bên của ống huyền dịch vi khuẩn để loại bớt phần huyền dịch vi khuẩn đã thấm vào đầu tăm bông. Sau đó, ria đều que tăm bông trên toàn bộ mặt đĩa thạch Mueller-Hinton (không hoặc 5% máu cừu) sao cho vi khuẩn được dàn đều lên trên toàn bộ bề mặt đĩa thạch.
- Đặt băng giấy Etest lên mặt thạch: Đặt băng giấy Etest lên mặt thạch sao cho mặt có ghi dải nồng độ hướng lên trên và phải đảm bảo toàn bộ bề mặt của băng giấy Etest được tiếp xúc hoàn toàn với mặt thạch. Khi đã đặt xong băng giấy Etest không được dịch chuyển băng giấy Etest khỏi vị trí.

- Ủ đĩa thạch trong tủ ấm,  $35^{\circ}\text{C} \pm 2$  từ 16 – 24 giờ.

### 4.2. Nhận định kết quả

- Chỉ đọc kết quả kháng sinh đồ chủng người bệnh khi kết quả thực hiện trên chủng chuẩn đạt.
- Sau khi ủ 16 – 24 giờ và khi thấy rõ vi khuẩn mọc, đọc giá trị MIC ở điểm cắt của hình elip với băng giấy Etest. Làm tròn giá trị MIC ở điểm giữa hai bậc pha loãng lên giá trị cao hơn một bậc trước khi phiên giải kết quả.
- Phiên giải kết quả MIC ra giá trị S, I hoặc R theo tài liệu của CLSI cập nhật hàng



năm.

- Với các kháng sinh diệt khuẩn, phải đọc giá trị MIC tại điểm vi khuẩn bị ức chế hoàn toàn. Với các kháng sinh kìm khuẩn, phải đọc giá trị MIC tại điểm vi khuẩn bị ức chế 80%.

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Ghi chép vào sổ và các biểu mẫu liên quan đến quy trình và lưu trữ hồ sơ.

##### 4.3.1. Trả kết quả

Trả kết quả xét nghiệm theo quy trình trả kết quả.

##### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu Kết quả kháng sinh đồ

##### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

TT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu Kết quả kháng sinh đồ	PXN	Bảng giấy	Theo quy định lưu trữ hồ sơ

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Không đọc kết quả khi kết quả thực hiện trên chủng chuẩn không đạt.  
 - Quy trình này chỉ áp dụng cho các chủng vi khuẩn hiếu kỵ khí tùy tiện dễ nuôi cấy, không áp dụng cho các vi khuẩn kỵ khí bắt buộc. Sai sót có thể gặp khi:

- + Lấn hai hay nhiều chủng vi khuẩn.
- + Vi khuẩn mọc quá dày hoặc quá thưa.
- + Phải tiến hành làm lại khi thấy các hiện tượng như trên.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Yếu tố ảnh hưởng

Các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm bao gồm:

- Chủng vi khuẩn gây bệnh: bị nhiễm một hoặc nhiều loại vi khuẩn khác.
- Chủng chuẩn: bị nhiễm một hoặc nhiều loại vi khuẩn khác.
- Môi trường thạch: bị nhiễm hoặc không đạt yêu cầu (quá dày hoặc quá mỏng).
- Độ đục huyền phù: không đạt yêu cầu McFarland 0,5.
- Sinh phẩm, vật tư tiêu hao bị nhiễm.
- Phiên giải kết quả: Vẫn thực hiện phiên giải khi các tiêu chí phản ứng không đạt yêu cầu, các bước thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các chủng vi khuẩn.

**6.2. Kiểm soát nguyên vật liệu, trang thiết bị và điều kiện môi trường**

- Các nguyên vật liệu trước khi đưa vào sử dụng đã được kiểm tra chất lượng.
- Tủ ẩm phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.
- Các trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ và trong thời hạn hiệu chuẩn (nếu phù hợp).
- Điều kiện môi trường của PXN phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.

**6.3. Kiểm soát mẫu xét nghiệm**

Chúng phải đảm bảo chủng vi khuẩn thuần và mới.

**6.4. Kiểm soát bằng chủng chuẩn**

Mỗi lần thực hiện phải sử dụng chủng chuẩn theo khuyến cáo của CLSI đối với từng tác nhân.

**6.5. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù:**

Tham gia chương trình ngoại kiểm: tùy theo chương trình tham gia tại phòng thí nghiệm.

**7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- M100 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing – 33rd edition, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).
- M07-A10 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition.

**Quy trình kỹ thuật số 247:****XÉT NGHIỆM XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ ỨC CHẾ TỐI THIỂU (MIC)  
CỦA VI KHUẨN BẰNG HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG****1. ĐẠI CƯƠNG****1.1. Mục đích**

Nhằm hướng dẫn thực hiện thử nghiệm nhạy cảm kháng sinh cho vi khuẩn gây bệnh trên hệ thống tự động.

**1.2. Định nghĩa**

Thử nghiệm vi khuẩn kháng thuốc hệ thống tự động là một thử nghiệm tính nhạy cảm kháng sinh cho các loại vi khuẩn gây bệnh trên hệ thống máy tự động tự động.

**1.3. Nguyên lý**

- Thẻ (card) dùng cho thực hiện thử nghiệm nhạy cảm kháng sinh trên hệ thống tự động là một phương pháp thử nghiệm tự động dựa trên kỹ thuật được báo cáo của MacLowry, Marsh và Gerlach. Thẻ này về cơ bản được thiết kế nhỏ và ngắn đảm bảo kỹ thuật pha loãng gấp đôi nhằm xác định những nồng độ ức chế tối thiểu bởi phương pháp vi pha loãng.

- Mỗi thẻ kháng thuốc hệ thống tự động chứa 64 giếng. Một giếng control (kiểm soát) chứa môi trường nuôi cấy vi khuẩn và giếng này có trên tất cả các loại thẻ thực hiện kháng thuốc. Những giếng còn lại chứa kháng sinh được kết hợp với môi trường nuôi cấy.

**2. CHUẨN BỊ****2.1. Người thực hiện**

- Chuẩn bị mẫu và xét nghiệm: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiet trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

**2.2. Vật tư****2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất***a. Dùng cho xét nghiệm:*

- Nước muối vô khuẩn 0,45%-0,5% NaCl, pH 4,5-7,0

- Các loại thẻ kháng thuốc dùng cho thực hiện thử nghiệm: các loại thẻ dùng cho thử nghiệm kháng thuốc hệ thống tự động bao gồm vi khuẩn và vi nấm men.

- Thạch máu, thạch chocolate, thạch EMB (EpsilonMethylen Blue), thạch Hektoen, thạch TSA (Trypticase soy agar), thạch BCP (Bromocresol Purple), BHI broth.



- Bộ thuốc nhuộm Gram
- Dầu soi

*b. Dùng cho nội kiểm, ngoại kiểm, hóa chất chuẩn, tham chiếu*

- **Vi khuẩn kiểm chứng:** Là các dòng vi khuẩn đã biết trước các đặc tính nhạy cảm kháng sinh đối, dùng để kiểm tra chất lượng của thẻ thử nghiệm nhạy cảm kháng sinh. Các dòng vi khuẩn kiểm chứng thường dùng là:

- + *Enterobacter faecalis* ATCC 29212
- + *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
- + *Enterobacter faecalis* ATCC 51299
- + *Staphylococcus aureus* ATCC BAA-1026
- + *Staphylococcus aureus* ATCC BAA-976
- + *Escherichia coli* ATCC 25922

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Lame kính
- Que cấy
- Đầu côn lọc
- Ống pha huyền dịch vi khuẩn
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

#### 2.3. Thiết bị

- Tủ an toàn sinh học
- Máy vortex
- Tủ mát (2 ÷ 8) °C
- Tủ ấm (35 ± 2) °C
- Tủ âm -200 °C
- Kính hiển vi
- Hệ thống tự động kháng sinh đồ MIC
- Máy đo độ đục

#### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có

##### 2.4.1. Đối với QTKT lấy mẫu bệnh phẩm hoặc mẫu xét nghiệm

Không áp dụng.

2.4.2. Đối với QTKT về thực hiện xét nghiệm (chuẩn bị mẫu hoặc mẫu bệnh phẩm trước khi xét nghiệm)

- Mẫu đầu vào là đĩa thạch môi trường đã có khúm khuẩn làm thuần tăng sinh từ mẫu bệnh phẩm cần xác định tính nhạy cảm kháng sinh.

- Có khúm khuẩn tách rời.

### 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm nếu có

- Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm gồm: thông tin bệnh nhân (họ tên, năm sinh, giới tính, địa chỉ), chỉ định, bác sĩ chỉ định, thời gian lấy mẫu, thời gian nhận mẫu.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

- Ước tính: 0.44 giờ/mẫu xét nghiệm.

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng xét nghiệm.

## 3. AN TOÀN

- Thử nghiệm nhạy cảm kháng sinh được tiến hành trên những mẫu dương tính, nên khi làm, yêu cầu người thực hiện mang găng tay, khẩu trang và áo choàng.

- Thực hiện các quy định về an toàn sinh học theo Sổ tay an toàn sinh học phòng xét nghiệm.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Chuẩn bị:

Môi trường, nước muối, Tuýp nhựa, thẻ kháng sinh đồ.

#### 4.1.2. Tiến hành:

- Từ quá trình nuôi cấy vi khuẩn trên các môi trường thích hợp: Thạch máu, thạch chocolate, thạch Hektoen, thạch TSA (Trypticase soy agar), thạch BCP (Bromocresol Purple), BHI broth.

Thẻ	GN	GP	NH	<u>YST</u>
<i>Định danh</i> ↓ <i>Hút qua</i>	ống 3mL NaCl, 0,5-0,63 McF	ống 3mL NaCl, 0,5-0,63 McF	ống 3mL NaCl, 2,70-3,30 McF	<u>ống 3mL NaCl,</u> <u>1,8-02,2 McF</u>
<i>Kháng thuốc</i>	145 mL, ống 3mL NaCl	280 mL, ống 3mL NaCl	145 mL, ống 3mL NaCl	280 mL, <u>ống 3mL NaCl</u>

- Chọn vi khuẩn gây bệnh để tiếp tục thực hiện thử nghiệm kháng thuốc hệ thống tự động.

- Pha huyền phù vi khuẩn gây bệnh từ khuẩn lạc thuần: huyền phù vi khuẩn dùng cho thử nghiệm phải được pha loãng đúng nồng độ trong nước muối 0,45%-0,5% trước khi bổ sung vào giếng có kháng sinh trên thẻ. Sơ đồ pha như sau:

Ví dụ: thực hiện thử nghiệm kháng thuốc tự động cho trực khuẩn Gram âm, thực hiện như sau:

+Chuẩn bị 02 ống plastic, sạch, đường kính 12 mmx75 mm

+Hút vào 02 ống trên, mỗi ống 3mL NaCl 0,45%-0,5%

+Ống 1: làm huyền dịch vi khuẩn cần thực hiện thử nghiệm kháng thuốc tự động vào ống đạt 0,5-0,63 McF

+Ống 2: hút 145 mL từ ống 1 cho vào ống 2. Ống 2 sau đó được làm đầy và được đặt vào hệ thống ủ, đọc tự động. Thời gian thực hiện theo hướng dẫn sử dụng sinh phẩm. Sau khi hoàn tất chu kỳ ủ, những giá trị nồng độ ức chế tối thiểu của các loại kháng sinh trên thẻ được xác định.

Lưu ý: ống 1 dùng làm huyền dịch bổ sung vào thẻ định danh vi khuẩn hệ thống tự động.

## 4.2. Nhận định kết quả

### 4.2.1. Xác định hiệu lực của lần xét nghiệm

- Đánh giá giếng control: có sự phát triển của vi khuẩn.
- Đánh giá chủng chuẩn thực hiện kháng sinh đồ: đúng vùng nồng độ.

### 4.2.2. Nhận định kết quả

- Đánh giá tính kháng thuốc của vi khuẩn: đánh giá sự hiện diện của vi khuẩn ở các giếng còn lại có kháng sinh. Một vài thông số được dựa trên đặc điểm phát triển của vi khuẩn để xác định nồng độ ức chế tối thiểu hoặc kết quả định tính (ví dụ: vi khuẩn âm tính hoặc dương tính với sinh men b-lactamase phổ rộng).

- Kết quả nồng độ ức chế tối thiểu phải được liên kết với vi khuẩn định danh được. Vi khuẩn định danh phải chính xác và đặc biệt có ý nghĩa trong trường hợp có sự kết hợp giữa vi khuẩn và kháng sinh, ví dụ: *Staphylococcus aureus*/Cefoxitin.

- Tiêu chuẩn sử dụng: CLSI M100S 2024 hoặc EUCAST, CA-SFM, FDA.

- Trường hợp kiểm tra chất lượng, kết quả “Đạt”:

+Mẫu vi khuẩn kháng thuốc hệ thống tự động trả kết quả sau 2 ngày.

+Kết quả báo cáo mẫu vi khuẩn kháng thuốc hệ thống tự động được nhập vào hệ thống trả kết quả.

- Tiến hành trả kết quả sẽ được thực hiện theo hướng dẫn của phòng xét nghiệm.

- Trường hợp kiểm tra chất lượng, kết quả “Không đạt”, thì thực hiện kiểm soát công việc không phù hợp và thực hiện hành động khắc phục phòng ngừa theo quy trình. Trường hợp ảnh hưởng đến thời gian trả kết quả xét nghiệm cho bệnh nhân, thực hiện chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm tham chiếu.



### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Trả kết quả theo quy trình quy trình của phòng xét nghiệm.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Biểu mẫu tiến trình làm việc
2	Biểu mẫu trả kết quả

#### 4.3.3 Lưu trữ hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm.

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

Không áp dụng.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Kháng thuốc giả:

+Huyền dịch quá đục, khuẩn lạc quá trê

+Nuôi cấy sai môi trường khuyến cáo

+Nước muối hoặc đầu phân phối nước muối bị nhiễm

+Sử dụng khuẩn lạc bị lẫn

- Nhạy cảm giả:

+Huyền dịch quá loãng, khuẩn lạc quá già

+Nuôi cấy sai môi trường khuyến cáo

+Sử dụng cùn hoặc chất tẩy rửa lau đầu phân phối nước muối

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm chất lượng

- Sử dụng chủng vi khuẩn kiểm chứng để kiểm tra chất lượng đĩa thê thử nghiệm nhạy cảm kháng sinh hàng ngày/ tuần.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

Tham gia chương trình Ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

*Handwritten signatures*

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Hướng dẫn sử dụng sản phẩm thẻ định danh của nhà sản xuất.
- Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, (CLSI) M100S-33, 2024.

## Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 248:

**XÉT NGHIỆM XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ ỨC CHẾ TỐI THIỂU CHO  
VI KHUẨN *NEISSERIA MENINGITIDIS* BẰNG E-TEST**

**1. ĐẠI CƯƠNG****1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn cách các định mức độ nhạy cảm và nồng độ ức chế tối thiểu của kháng sinh với chủng vi khuẩn *Neisseria meningitidis*, cả gây bệnh và thường trú.

**1.2. Định nghĩa**

- MIC (Minimal inhibitory concentration) : nồng độ ức chế tối thiểu
- S (Susceptible): Nhạy cảm
- I (Intermediate): Trung gian
- R (Resistant): Đề kháng
- PXN: phòng xét nghiệm
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
- EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- ATSH: An toàn sinh học

**1.3. Nguyên lý**

Băng giấy Etest là thanh giấy chất lượng cao được tẩm với dải nồng độ kháng sinh theo  $\mu\text{g/mL}$  được xác định. Khi băng giấy E-test được đặt lên mặt thạch đã dàn trải vi khuẩn, kháng sinh ở có bậc nồng độ sẽ khuếch tán trong thạch. Sau khi nuôi cấy qua đêm, sẽ xuất hiện vùng ức chế hình elip đối xứng qua băng giấy. Giá trị MIC được xác định trực tiếp tại điểm cắt của hình elip với băng giấy E-test. Giá trị MIC sẽ được diễn giải ra phân loại S (Susceptible – nhạy cảm), I (intermediate – trung gian), hoặc R (resistant – đề kháng) khi so sánh với bảng chuẩn CLSI cập nhật hàng năm.

**2. CHUẨN BỊ****2.1. Người thực hiện**

- Chuẩn bị: 01 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Pha huyền dịch vi khuẩn: 01 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Đặt kháng sinh: 01 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Diễn giải và báo cáo kết quả: 01 nhân sự trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.
- Quản lý dữ liệu PXN: 01 nhân sự trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học



sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Đảm bảo an toàn sinh học, quản lý chất lượng, khử trùng: 01 nhân sự trình độ trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

## **2.2. Vật tư**

- Băng giấy Etest
- Đĩa môi trường cấy chuyên (thạch máu hoặc thạch socholate)
- Đĩa thạch Muller Hinton (5% máu cừu)
- Tối thiểu 01 chủng chuẩn
- Que cấy
- Que tăm bông vô trùng
- Ống nghiệm
- Khẩu trang
- Găng tay
- Panh
- Nước muối sinh lý
- Khăn giấy
- Cồn 90
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

## **2.3. Thiết bị**

- Tủ ấm CO<sub>2</sub> hoặc tủ ấm có bình nền
- Tủ an toàn sinh học cấp 2.
- Máy lắc.
- Ống độ đục chuẩn McFarland 0,5 hoặc máy đo độ đục.

## **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm**

- Loại mẫu xét nghiệm: chủng vi khuẩn.
- Chủng vi khuẩn phải được cấy thuần trước khi thực hiện.

## **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

Không áp dụng

## 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện toàn bộ quy trình: 2,67 giờ.

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Đơn vị áp dụng: các cơ sở y tế

## 3. AN TOÀN

- Thao tác trong tủ an toàn sinh học cấp 2.

- Quy định về bảo đảm an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm theo nghị định 103/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 07 năm 2016.

- Quy định về thực hành bảo đảm an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm theo thông tư 37/2017/TT-BYT ngày 25 tháng 09 năm 2017.

- Quy định về quản lý mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm theo thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018.

- Quy định về quản lý chất thải y tế theo Thông tư 20/2021/TT-BYT của Bộ Y tế quy định về quản lý chất thải y tế trong phạm vi khuôn viên cơ sở y tế.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Chuẩn bị

Chủng vi khuẩn cần thử nghiệm và chủng chuẩn được nuôi cấy thuần trong điều kiện tối ưu và đang ở giai đoạn phát triển mạnh (nuôi cấy sau 16 – 24 giờ).

#### 4.1.2. Pha huyền dịch vi khuẩn

Dùng que cấy lấy vi khuẩn từ 3 – 5 khuẩn lạc hòa tan đều vào ống nước muối sinh lý 5 mL, lắc đều trên máy lắc để có huyền dịch đồng nhất. So sánh độ đục hoặc đo huyền dịch vi khuẩn tương ứng với độ đục của ống McFarland 0,5.

#### 4.1.3. Dàn đều canh khuẩn lên mặt đĩa thạch

Dùng tăm bông vô trùng nhúng vào ống huyền dịch vi khuẩn đã pha ở trên, ép nhẹ và xoay tròn tăm bông trên thành bên của ống huyền dịch vi khuẩn để loại bớt phần huyền dịch vi khuẩn đã thấm vào đầu tăm bông. Sau đó, ria đều que tăm bông trên toàn bộ mặt đĩa thạch Mueller-Hinton (không hoặc 5% máu cừu) sao cho vi khuẩn được dàn đều lên trên toàn bộ bề mặt đĩa thạch.

#### 4.1.4. Đặt băng giấy Etest lên mặt thạch

Đặt băng giấy Etest lên mặt thạch sao cho mặt có ghi dải nồng độ hướng lên trên và phải đảm bảo toàn bộ bề mặt của băng giấy Etest được tiếp xúc hoàn toàn với mặt thạch. Khi đã đặt xong băng giấy Etest không được dịch chuyển băng giấy Etest khỏi vị trí.

#### 4.1.5. Ủ đĩa thạch trong tủ ấm, $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ từ 16 – 24 giờ.

### 4.2. Nhận định kết quả

- Chỉ đọc kết quả kháng sinh đồ chủng người bệnh khi kết quả thực hiện trên chủng chuẩn đạt.

- Sau khi ủ 16 – 24 giờ và khi thấy rõ vi khuẩn mọc, đọc giá trị MIC ở điểm cắt của hình elip với băng giấy Etest. Làm tròn giá trị MIC ở điểm giữa hai bậc pha loãng lên giá trị cao hơn một bậc trước khi phiên giải kết quả.

- Phiên giải kết quả MIC ra giá trị S, I hoặc R theo tài liệu của CLSI cập nhật hàng năm.

- Với các kháng sinh diệt khuẩn, phải đọc giá trị MIC tại điểm vi khuẩn bị ức chế hoàn toàn. Với các kháng sinh kìm khuẩn, phải đọc giá trị MIC tại điểm vi khuẩn bị ức chế 80%.

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Ghi chép vào sổ và các biểu mẫu liên quan đến quy trình và lưu trữ hồ sơ.

#### 4.3.1. Trả kết quả

Trả kết quả xét nghiệm theo quy trình trả kết quả.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu Kết quả kháng sinh đồ

#### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu Kết quả kháng sinh đồ	PXN	Băng giấy	Theo quy định lưu trữ hồ sơ

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Không đọc kết quả khi kết quả thực hiện trên chủng chuẩn không đạt.
- Quy trình này chỉ áp dụng cho các chủng vi khuẩn hiếu kỵ khí tùy tiện dễ nuôi cấy, không áp dụng cho các vi khuẩn kỵ khí bắt buộc. Sai sót có thể gặp khi:
  - +Lấn hai hay nhiều chủng vi khuẩn.
  - +Vi khuẩn mọc quá dày hoặc quá thưa.
  - +Phải tiến hành làm lại khi thấy các hiện tượng như trên.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Yếu tố ảnh hưởng

Các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm bao gồm:

- Chủng vi khuẩn gây bệnh: bị nhiễm một hoặc nhiều loại vi khuẩn khác.
- Chủng chuẩn: bị nhiễm một hoặc nhiều loại vi khuẩn khác.
- Môi trường thạch: bị nhiễm hoặc không đạt yêu cầu (quá dày hoặc quá mỏng).
- Độ đục huyền phù: không đạt yêu cầu McFarland 0,5.
- Sinh phẩm, vật tư tiêu hao bị nhiễm.



- Phiên giải kết quả: Vẫn thực hiện phiên giải khi các tiêu chí phản ứng không đạt yêu cầu, các bước thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các chủng vi khuẩn.

### **6.2. Kiểm soát nguyên vật liệu, trang thiết bị và điều kiện môi trường**

- Các nguyên vật liệu trước khi đưa vào sử dụng đã được kiểm tra chất lượng.  
 - Tủ âm phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.  
 - Các trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ và trong thời hạn hiệu chuẩn (nếu phù hợp).

- Điều kiện môi trường của PXN phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.

### **6.3. Kiểm soát mẫu xét nghiệm**

Chủng phải đảm bảo chủng vi khuẩn thuần và mới.

### **6.4. Kiểm soát bằng chủng chuẩn**

Mỗi lần thực hiện phải sử dụng chủng chuẩn theo khuyến cáo của CLSI đối với từng tác nhân.

### **6.5. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù:**

Tham gia chương trình ngoại kiểm: tùy theo chương trình tham gia tại phòng thí nghiệm.

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- M100 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing – 33rd edition, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

- M07-A10 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 249:

**XÉT NGHIỆM XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ ỨC CHẾ TỐI THIỂU CHO VI KHUẨN  
*STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* BẰNG E-TEST**

**1. ĐẠI CƯƠNG**

**1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn cách các định mức độ nhạy cảm và nồng độ ức chế tối thiểu của kháng sinh với chủng vi khuẩn *Streptococcus pneumoniae* cả gây bệnh và thường trú.

**1.2. Định nghĩa**

- MIC (Minimal inhibitory concentration) : nồng độ ức chế tối thiểu
- S (Susceptible): Nhạy cảm
- I (Intermediate): Trung gian
- R (Resistant): Đề kháng
- PXN: phòng xét nghiệm
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
- EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- ATSH: An toàn sinh học

**1.3. Nguyên lý**

Băng giấy Etest là thanh giấy chất lượng cao được tẩm với dải nồng độ kháng sinh theo  $\mu\text{g/mL}$  được xác định. Khi băng giấy E-test được đặt lên mặt thạch đã dàn trải vi khuẩn, kháng sinh ở có bậc nồng độ sẽ khuếch tán trong thạch. Sau khi nuôi cấy qua đêm, sẽ xuất hiện vùng ức chế hình elip đối xứng qua băng giấy. Giá trị MIC được xác định trực tiếp tại điểm cắt của hình elip với băng giấy E-test. Giá trị MIC sẽ được diễn giải ra phân loại S (Susceptible – nhạy cảm), I (intermediate – trung gian), hoặc R (resistant – đề kháng) khi so sánh với bảng chuẩn CLSI cập nhật hàng năm.

**2. CHUẨN BỊ**

**2.1. Người thực hiện**

- Chuẩn bị: 01 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Pha huyền dịch vi khuẩn: 01 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Đặt kháng sinh: 01 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Diễn giải và báo cáo kết quả: 01 nhân sự trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.
- Quản lý dữ liệu PXN: 01 nhân sự trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học

sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Đảm bảo an toàn sinh học, quản lý chất lượng, khử trùng: 01 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

## 2.2. Vật tư

- Băng giấy Etest
- Đĩa môi trường cấy chuyển thạch máu hoặc thạch socholate 5% máu cừu
- Đĩa thạch Muller Hinton (5% máu cừu)
- Tối thiểu 01 chủng chuẩn
- Que cấy
- Que tăm bông vô trùng
- Ống nghiệm
- Khẩu trang
- Găng tay
- Panh
- Nước muối sinh lý
- Bút viết kính
- Bút lông
- Dung dịch rửa tay
- Khăn giấy
- Cồn 90
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

## 2.3. Thiết bị

- Tủ ấm CO<sub>2</sub> hoặc tủ ấm có bình nền
- Tủ an toàn sinh học cấp 2.
- Máy lắc.
- Ống độ đục chuẩn McFarland 0,5 hoặc máy đo độ đục.

## 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có

- Loại mẫu xét nghiệm: chủng vi khuẩn.
- Chủng vi khuẩn phải được cấy thuần trước khi thực hiện.



## 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Không áp dụng

## 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện toàn bộ quy trình: 2,67 giờ.

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Đơn vị áp dụng: các cơ sở y tế

## 3. AN TOÀN

- Thao tác trong tủ an toàn sinh học cấp 2.
- Quy định về bảo đảm an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm theo nghị định 103/2016/ND-CP ngày 01 tháng 07 năm 2016.
- Quy định về thực hành bảo đảm an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm theo thông tư 37/2017/TT-BYT ngày 25 tháng 09 năm 2017.
- Quy định về quản lý mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm theo thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018.
- Quy định về quản lý chất thải y tế theo Thông tư 20/2021/TT-BYT của Bộ Y tế quy định về quản lý chất thải y tế trong phạm vi khuôn viên cơ sở y tế.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Chuẩn bị

Chủng vi khuẩn cần thử nghiệm và chủng chuẩn được nuôi cấy thuần trong điều kiện tối ưu và đang ở giai đoạn phát triển mạnh (nuôi cấy sau 16 – 24 giờ).

#### 4.1.2. Pha huyền dịch vi khuẩn

Dùng que cấy lấy vi khuẩn từ 3 – 5 khuẩn lạc hòa tan đều vào ống nước muối sinh lý 5 mL, lắc đều trên máy lắc để có huyền dịch đồng nhất. So sánh độ đục hoặc đo huyền dịch vi khuẩn tương ứng với độ đục của ống McFarland 0,5.

#### 4.1.3. Dàn đều canh khuẩn lên mặt đĩa thạch

Dùng tăm bông vô trùng nhúng vào ống huyền dịch vi khuẩn đã pha ở trên, ép nhẹ và xoay tròn tăm bông trên thành bên của ống huyền dịch vi khuẩn để loại bớt phần huyền dịch vi khuẩn đã thấm vào đầu tăm bông. Sau đó, ria đều que tăm bông trên toàn bộ mặt đĩa thạch Mueller-Hinton (không hoặc 5% máu cừu) sao cho vi khuẩn được dàn đều lên trên toàn bộ bề mặt đĩa thạch.

#### 4.1.4. Đặt băng giấy Etest lên mặt thạch

Đặt băng giấy Etest lên mặt thạch sao cho mặt có ghi dải nồng độ hướng lên trên và phải đảm bảo toàn bộ bề mặt của băng giấy Etest được tiếp xúc hoàn toàn với mặt thạch. Khi đã đặt xong băng giấy Etest không được dịch chuyển băng giấy Etest khỏi vị trí.

#### 4.1.5. Ủ đĩa thạch trong tủ ấm, $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ từ 16 – 24 giờ.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Chỉ đọc kết quả kháng sinh đồ chủng người bệnh khi kết quả thực hiện trên chủng chuẩn đạt.

- Sau khi ủ 16 – 24 giờ và khi thấy rõ vi khuẩn mọc, đọc giá trị MIC ở điểm cắt của hình elip với băng giấy Etest. Làm tròn giá trị MIC ở điểm giữa hai bậc pha loãng lên giá trị cao hơn một bậc trước khi phiên giải kết quả.

- Phiên giải kết quả MIC ra giá trị S, I hoặc R theo tài liệu của CLSI cập nhật hàng năm.

- Với các kháng sinh diệt khuẩn, phải đọc giá trị MIC tại điểm vi khuẩn bị ức chế hoàn toàn. Với các kháng sinh kìm khuẩn, phải đọc giá trị MIC tại điểm vi khuẩn bị ức chế 80%.

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Ghi chép vào sổ và các biểu mẫu liên quan đến quy trình và lưu trữ hồ sơ.

##### 4.3.1. Trả kết quả

Trả kết quả xét nghiệm theo quy trình trả kết quả.

##### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu Kết quả kháng sinh đồ

##### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu Kết quả kháng sinh đồ	PXN	Bảng giấy	Theo quy định lưu trữ hồ sơ

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Không đọc kết quả khi kết quả thực hiện trên chủng chuẩn không đạt.

- Quy trình này chỉ áp dụng cho các chủng vi khuẩn hiếu kỵ khí tùy tiện để nuôi cấy, không áp dụng cho các vi khuẩn kỵ khí bắt buộc. Sai sót có thể gặp khi:

+Lấn hai hay nhiều chủng vi khuẩn.

+Vi khuẩn mọc quá dày hoặc quá thưa.

+Phải tiến hành làm lại khi thấy các hiện tượng như trên.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Yếu tố ảnh hưởng

Các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm bao gồm:

- Chủng vi khuẩn gây bệnh: bị nhiễm một hoặc nhiều loại vi khuẩn khác.

- Chủng chuẩn: bị nhiễm một hoặc nhiều loại vi khuẩn khác.

- Môi trường thạch: bị nhiễm hoặc không đạt yêu cầu (quá dày hoặc quá mỏng).
- Độ đục huyền phù: không đạt yêu cầu McFarland 0,5.
- Sinh phẩm, vật tư tiêu hao bị nhiễm.
- Phiên giải kết quả: Vẫn thực hiện phiên giải khi các tiêu chí phản ứng không đạt yêu cầu, các bước thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các chủng vi khuẩn.

#### **6.2. Kiểm soát nguyên vật liệu, trang thiết bị và điều kiện môi trường**

- Các nguyên vật liệu trước khi đưa vào sử dụng đã được kiểm tra chất lượng.
- Tủ âm phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.
- Các trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ và trong thời hạn hiệu chuẩn (nếu phù hợp).
- Điều kiện môi trường của PXN phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.

#### **6.3. Kiểm soát mẫu xét nghiệm**

Chủng phải đảm bảo chủng vi khuẩn thuần và mới.

#### **6.4. Kiểm soát bằng chủng chuẩn**

Mỗi lần thực hiện phải sử dụng chủng chuẩn theo khuyến cáo của CLSI đối với từng tác nhân.

#### **6.5. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù:**

Tham gia chương trình ngoại kiểm: tùy theo chương trình tham gia tại phòng thí nghiệm.

### **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- M100 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing – 33rd edition, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).
- M07-A10 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition.



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 250:****XÉT NGHIỆM XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ ỨC CHẾ TỐI THIỂU CHO VI KHUẨN  
*CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE* BẰNG E-TEST****1. ĐẠI CƯƠNG****1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn cách các định mức độ nhạy cảm và nồng độ ức chế tối thiểu của kháng sinh với chủng vi khuẩn bạch hầu gây bệnh.

**1.2. Định nghĩa**

- MIC (Minimal inhibitory concentration): nồng độ ức chế tối thiểu
- S (Susceptible): Nhạy cảm
- I (Intermediate): Trung gian
- R (Resistant): Đề kháng
- PXN: phòng xét nghiệm
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
- EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- ATSH: An toàn sinh học

**1.3. Nguyên lý**

Băng giấy Etest là thanh giấy chất lượng cao được tẩm với dải nồng độ kháng sinh theo  $\mu\text{g/mL}$  được xác định. Khi băng giấy E-test được đặt lên mặt thạch đã trải đều vi khuẩn, kháng sinh ở có bậc nồng độ nhanh chóng khuếch tán trong thạch. Sau khi nuôi cấy qua đêm, sẽ xuất hiện vùng ức chế hình elip đối xứng qua băng giấy. Giá trị MIC được xác định trực tiếp tại điểm cắt của hình elip với băng giấy Etest. Giá trị MIC sẽ được phiên giải ra phân loại S (Susceptible – nhạy cảm), I (intermediate – trung gian), hoặc R (resistant – đề kháng) khi so sánh với băng chuẩn CLSI cập nhật hàng năm.

**2. CHUẨN BỊ****2.1. Người thực hiện**

- Chuẩn bị: 01 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Pha huyền dịch vi khuẩn: 01 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Đặt kháng sinh: 01 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn
- Diễn giải và báo cáo kết quả: 01 nhân sự trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.
- Quản lý dữ liệu PXN: 01 nhân sự trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

- Đảm bảo an toàn sinh học, quản lý chất lượng, khử trùng: 01 nhân sự trình độ cao đăng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

## 2.2. Vật tư

- Băng giấy kháng sinh Etest thương mại
- Đĩa môi trường thạch máu cừu 5%
- Đĩa thạch Muller Hinton (5% máu cừu hoặc không)
- Tối thiểu 01 chủng chuẩn
- Que cấy
- Que tăm bông vô trùng
- Ống nghiệm
- Khẩu trang
- Găng tay
- Panh
- Nước muối sinh lý
- Khăn giấy
- Cồn 90
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

## 2.3. Thiết bị

- Tủ ấm CO<sub>2</sub> hoặc tủ ủ có chuông nền
- Tủ an toàn sinh học cấp 2.
- Máy lắc.
- Ống chuẩn độ đục chuẩn McFarland 0,5 hoặc máy đo độ đục.

## 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có

- Loại mẫu xét nghiệm: chủng vi khuẩn bạch hầu.
- Chủng vi khuẩn phải được cấy thuần khoảng 16-24h trước khi thực hiện.

## 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Không áp dụng

## 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện toàn bộ quy trình: 2,67 giờ.

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Đơn vị áp dụng: các cơ sở y tế

## 3. AN TOÀN

- Thao tác trong tủ an toàn sinh học cấp 2.
- Quy định về bảo đảm an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm theo nghị định 103/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 07 năm 2016.
- Quy định về thực hành bảo đảm an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm theo thông tư 37/2017/TT-BYT ngày 25 tháng 09 năm 2017.
- Quy định về quản lý mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm theo thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018.
- Quy định về quản lý chất thải y tế theo Thông tư 20/2021/TT-BYT của Bộ Y tế quy định về quản lý chất thải y tế trong phạm vi khuôn viên cơ sở y tế.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Chuẩn bị:

Chủng vi khuẩn cần thử nghiệm và chủng chuẩn được nuôi cấy thuần trong điều kiện tối ưu và đang ở giai đoạn phát triển mạnh (nuôi cấy sau 16 – 24 giờ).

#### 4.1.2. Pha huyền dịch vi khuẩn

Dùng que cấy lấy vi khuẩn từ 3 – 5 khuẩn lạc hòa tan đều vào ống nước muối sinh lý 5 mL, lắc đều trên máy lắc để có huyền dịch đồng nhất. So sánh độ đục hoặc đo huyền dịch vi khuẩn tương ứng với độ đục của ống McFarland 0,5.

#### 4.1.3. Dàn đều canh khuẩn lên mặt đĩa thạch

Dùng tăm bông vô trùng nhúng vào ống huyền dịch vi khuẩn đã pha ở trên, ép nhẹ và xoay tròn tăm bông trên thành bên của ống huyền dịch vi khuẩn để loại bớt phần huyền dịch vi khuẩn đã thấm vào đầu tăm bông. Sau đó, ria đều que tăm bông trên toàn bộ mặt đĩa thạch Mueller-Hinton (không hoặc 5% máu cừu) sao cho vi khuẩn được dàn đều lên trên toàn bộ bề mặt đĩa thạch.

#### 4.1.4. Đặt băng giấy Etest lên mặt thạch

Đặt băng giấy Etest lên mặt thạch sao cho mặt có ghi dải nồng độ hướng lên trên và phải đảm bảo toàn bộ bề mặt của băng giấy Etest được tiếp xúc hoàn toàn với mặt thạch. Khi đã đặt xong băng giấy Etest không được dịch chuyển băng giấy Etest khỏi vị trí.

#### 4.1.5. Ủ đĩa thạch trong tủ ấm, $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ từ 16 – 24 giờ.

### 4.2. Nhận định kết quả

- Chỉ đọc kết quả kháng sinh đồ chủng người bệnh khi kết quả thực hiện trên chủng chuẩn đạt.



- Sau khi ủ 16 – 24 giờ và khi thấy rõ vi khuẩn mọc, đọc giá trị MIC ở điểm cắt của hình elip với băng giấy Etest. Làm tròn giá trị MIC ở điểm giữa hai bậc pha loãng lên giá trị cao hơn một bậc trước khi phiên giải kết quả.

- Phiên giải kết quả MIC ra giá trị S, I hoặc R theo tài liệu của CLSI cập nhật hàng năm.

- Với các kháng sinh diệt khuẩn, phải đọc giá trị MIC tại điểm vi khuẩn bị ức chế hoàn toàn. Với các kháng sinh kìm khuẩn, phải đọc giá trị MIC tại điểm vi khuẩn bị ức chế 80%.

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Ghi chép vào sổ và các biểu mẫu liên quan đến quy trình và lưu trữ hồ sơ.

#### 4.3.1. Trả kết quả

Trả kết quả xét nghiệm theo quy trình trả kết quả.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu Kết quả kháng sinh đồ

#### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu Kết quả kháng sinh đồ	PXN	Bảng giấy	Theo quy định lưu trữ hồ sơ

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Không đọc kết quả khi kết quả thực hiện trên chủng chuẩn không đạt.

- Quy trình này chỉ áp dụng cho các chủng vi khuẩn hiếu kỵ khí tùy tiện dễ nuôi cấy, không áp dụng cho các vi khuẩn kỵ khí bắt buộc. Sai sót có thể gặp khi:

+Lấn hai hay nhiều chủng vi khuẩn.

+Vi khuẩn mọc quá dày hoặc quá thưa.

+Phải tiến hành làm lại khi thấy các hiện tượng như trên.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Yếu tố ảnh hưởng

Các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm bao gồm:

- Chủng vi khuẩn gây bệnh: bị nhiễm một hoặc nhiều loại vi khuẩn khác.

- Chủng chuẩn: bị nhiễm một hoặc nhiều loại vi khuẩn khác.

- Môi trường thạch: bị nhiễm hoặc không đạt yêu cầu (quá dày hoặc quá mỏng).

- Độ đục huyền phù: không đạt yêu cầu McFarland 0,5.

- Sinh phẩm, vật tư tiêu hao bị nhiễm.

- Phiên giải kết quả: Vẫn thực hiện phiên giải khi các tiêu chí phản ứng không đạt yêu cầu, các bước thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các chủng vi khuẩn.

### **6.2. Kiểm soát nguyên vật liệu, trang thiết bị và điều kiện môi trường**

- Các nguyên vật liệu trước khi đưa vào sử dụng đã được kiểm tra chất lượng.
- Tủ ấm phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.
- Các trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ và trong thời hạn hiệu chuẩn (nếu phù hợp).
- Điều kiện môi trường của PXN phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.

### **6.3. Kiểm soát mẫu xét nghiệm**

Chủng phải đảm bảo chủng vi khuẩn thuần và mới.

### **6.4. Kiểm soát bằng chủng chuẩn**

Mỗi lần thực hiện phải sử dụng chủng chuẩn theo khuyến cáo của CLSI đối với từng tác nhân.

### **6.5. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù:**

Tham gia chương trình ngoại kiểm: tùy theo chương trình tham gia tại phòng thí nghiệm.

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- M45- Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

- M07-A10 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 251:**

**XÉT NGHIỆM XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ HỢP CHẤT TỐI THIỂU  
ỨC CHẾ VI KHUẨN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* (MIC)**

**1. ĐẠI CƯƠNG**

**1.1. Mục đích**

Quy trình xét nghiệm xác định nồng độ hợp chất tối thiểu ức chế vi khuẩn *Mycobacterium Tuberculosis* (MIC) được thực hiện nhằm xác định khả năng ức chế tối thiểu sự phát triển *Mycobacterium Tuberculosis* của hợp chất sinh học trong mẫu hợp chất xét nghiệm một cách an toàn, đáng tin cậy và kịp thời.

**1.2. Định nghĩa**

1.2.1. Giải thích từ ngữ

Không áp dụng

1.2.2 Từ viết tắt

- LJ	:Môi trường Lowenstein Jensen
- M7H9	:Môi trường Middlebrook 7H9
- M7H11	:Môi trường Middlebrook M7H11
- MTB	:Mycobacteria Tuýp rculosis
- OADC	:Oleic acid albumin detrose catalase
- RIF	:Rifampicin
- INH	:Isoniazid
- LIZ	:Linezolid
- MOX	:Moxifloxacin
- PA-824	:Petromanid
- TMC-207	:Bedaquilin
- NC	:Chúng âm
- PC	:Chúng dương
- MIC	:Minimal Inhibition Concentration
- PTN	:Phòng thí nghiệm
- QLKT	:Quản lý kỹ thuật
- QLCL	:Quản lý chất lượng

**1.3. Nguyên lý**

Xét nghiệm sàng lọc các hợp chất sinh học ở các dải nồng độ khác nhau trong điều kiện hiếu khí ở môi trường M7H9 và dưới tác dụng của thuốc thử Rerazurin có màu xanh đậm và không phát huỳnh quang ở dạng oxy hoá, nhưng dưới ảnh hưởng của hoạt



chất sinh học sẽ chuyển thành màu hồng và phát huỳnh quang khi khử thành resorufin.

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu, chuẩn bị mẫu, chuẩn bị máy, thực hiện xét nghiệm: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình được giao.

- Phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình được giao.

- Nhập, phân tích, quản lý dữ liệu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y, máy tính và công nghệ thông tin hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### 2.2. Vật tư

#### 2.2.1 Sinh phẩm, hoá chất

##### a. Dụng cụ xét nghiệm

- Ethanol 99%
- DMSO (Merck)
- Glycerol
- Resazurin
- PBS 10X
- OADC
- Rifampicin
- Isoniazid
- Linezolid
- Moxiloxacin
- Petromanid
- Bedaquilin
- Nước cất vô trùng
- Môi trường LJ
- Môi trường M7H9, M7H11
- Trứng gà
- Tween x80
- Nước sinh học phân tử
- Nước cất 2 lần

## b. Mẫu chứng, mẫu chuẩn

- Chứng âm: nước vô trùng
- Chứng dương: chủng H37 Rv

## 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Đầu côn các loại: 10 mL, 30 mL, 100 mL, 200 mL, 1000 mL
  - Phiến 48 giếng (Mt thạch M7H11)
  - Phiến 96 giếng (Mt M7H9)
  - Tuýp eppendoff 2 mL
  - Găng tay
  - Hộp đựng bông cotton 70%, Javen 0.5%
  - Túi/ can đựng đồ thải bỏ
  - Giấy lau vệ sinh tủ ATSH
  - Tuýp thủy tinh 18-20 mm
  - Tuýp Falcon 50 mL, 15 mL
  - Giá để tuýp.
  - Găng tay không bột các kích cỡ.
  - Giấy thấm.
  - Sterilize bottle 250 mL, 500 mL
  - Màng lọc 0,22mm, 0,8 mm+ Kim tiêm 10 mL
  - Máng 50 mL
  - Pipet nhựa 3 mL
  - Kéo thẳng nhỏ
  - Vải gạc xô
  - Bông thấm nước
  - Bông y tế
  - Phễu
  - Ống đong khắc vạch
  - Pipet nhựa khắc vạch 25 mL
  - Thanh khuấy từ
  - Trang bị bảo hộ cá nhân
  - Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
  - Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...
- Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3 Thiết bị

- Máy CLARIO Star + phần mềm Mar (PTN cấp 3)
  - Máy tính+ Wifi ( kết nối với máy CLARIO star trong PTN cấp 3 )
  - Máy vortex
  - Máy spindown
  - Máy hút chân không
  - Máy siêu nghiền mẫu
  - Máy ủ nhiệt/ bể nước có nhiệt
  - Máy ly tâm eppendorf
  - Tủ an toàn sinh học
  - Tủ ẩm CO<sub>2</sub>
  - Máy đo Mc Faland
  - Tủ lạnh
  - Tủ lạnh âm
  - Lò hấp sấy tiệt trùng
  - Micropipet các loại: 10 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl, 5000 µl
  - Pipet tự động điện tử 10 µl, 100 µl .200 µl, 1000 µl
  - Hệ thống các thiết bị văn phòng: máy tính, máy in, điều hoà, phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm (nếu có) ...
  - Nhiệt kế
  - Nhiệt ẩm kế
  - Cân điện tử
  - Máy khuấy từ
  - Máy tính để đọc và phân tích kết quả
  - Các trang thiết bị khác (bàn xét nghiệm, ...)
- Bảo dưỡng bảo trì bảo quản theo hướng dẫn của nhà sản xuất

### 2.4 Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm

#### 2.4.1 Chuẩn bị bệnh nhân

Không áp dụng

#### 2.4.2 Thu thập và xử lý mẫu ban đầu

- Loại mẫu xét nghiệm: các hợp chất sinh hoá học thô và tinh khiết
- Liệt kê dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, các bước thu thập, bảo quản, vận chuyển mẫu hoặc viện dẫn đến quy trình lấy mẫu tương ứng.

Mẫu hợp chất được đựng trong Tuýp 2mL nắp xoáy, bảo quản và vận chuyển trong



tích lạnh

- Tiêu chí chấp nhận mẫu: (thể tích, số lượng, chất lượng...)

Tuỳ thuộc vào mẫu thô hay mẫu tinh khiết, nước hay đặc. Thể tích mẫu, nhiệt độ bảo quản và cách đóng gói bệnh phẩm đúng như quy định

### **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

- Viện dẫn biểu mẫu phiếu chỉ định/yêu cầu xét nghiệm.

- Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm đảm bảo đủ các thông tin cần thiết.

### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Tổng số giờ làm xét nghiệm: 5 ngày

### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Thực hiện tại phòng xét nghiệm.

## **3. AN TOÀN**

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học cấp II, cấp III theo mức độ nguy cơ của tác nhân tương ứng với kỹ thuật thực hiện theo quy định về an toàn sinh học phòng xét nghiệm.

## **4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **4.1 Các bước thực hiện**

#### **4.1.1 Thực hiện kỹ thuật**

Kiểm tra và tiếp nhận mẫu theo Quy trình tiếp nhận yêu cầu xét nghiệm và Sổ tay dịch vụ khách hàng của đơn vị

Nuôi cấy chủng H37Rv

*Chuẩn bị môi trường LJ*

- Cân môi trường LJ

- Thêm Glycerol theo tỉ lệ yêu cầu

- Hấp ướm 121 °C/ 15 phút

- Để môi trường trên máy khuấy từ có nhiệt độ 60 °C

- Bổ sung trứng gà theo tỉ lệ hướng dẫn

- Dùng pipet khắc vạch chia ra Tuýp nuôi cấy thủy tinh 18 mm /20 mm

- Để nghiêng mặt thạch ở nhiệt độ 85 °C / 30 phút, không mở nắp tủ sấy.

- Tiếp tục ngày hôm sau để nhiệt độ 85 °C/ 30 phút

- Để tủ ấm 37 °C qua đêm, kiểm tra xem có nhiễm nấm

- Lưu giữ trong tủ lạnh (2-8) °C

*Chuẩn bị môi trường M7H9*

- Cân môi trường M7H9

- Thêm 20% Tween 80

- Thêm 50% Glycerol
- Hấp sấy 121 °C / 15 phút hoặc lọc bằng chai sterilize filter 250 mL hoặc 500 mL có sử dụng máy hút chân không.

- Bổ xung 10% OADC

- Chia môi trường ra Tuýp 50 mL hoặc chai nuôi cấy 100, 200 mL... tùy vào số lượng môi trường cần nuôi cấy

*Nuôi cấy vi khuẩn lao*

- Đối với môi trường M7H9 ở tủ ấm 37 °C có lắc/ 7-10 ngày, ly tâm tách lấy cặn, gặt và lọc VK bằng sterilize filter 0,8mm

- Nuôi cấy vi khuẩn lao đối với môi trường LJ ở tủ ấm 37 °C/ 4 -8 tuần, gặt và lưu ở tủ - 70°C

*Đo độ huyền phù của MTB*

- Độ huyền phù của vi khuẩn theo nồng độ CFU khác nhau tương đương CFU=10<sup>8</sup>; 10<sup>7</sup>; 10<sup>6</sup>; 10<sup>5</sup>

- Pha môi trường thực hiện MIC

*Chuẩn bị môi trường M7H9*

- Cân môi trường M7H9, bổ sung nước cất, hấp sấy 121 °C / 15 phút hoặc lọc sterilize filter 250 mL hoặc 500 mL có sử dụng máy hút chân không

- Bổ xung 10% OADC

- Chuẩn bị môi trường M7H11

- Cân môi trường, bổ sung nước cất, hấp sấy 121 °C / 15 phút

- Bổ xung 10% OADC

- Sử dụng pipet nhựa 3 mL hoặc đầu côn 5 mL hút và nhỏ môi trường ra phiến 48 giếng

- Để môi trường trong tủ ấm 37°C, sau đó kiểm tra lại xem có nhiễm nấm

- Pha Kháng sinh

- Cân kháng sinh vào Tuýp 1,5 mL hoặc 2 mL

- Kháng sinh pha loãng theo nồng độ yêu cầu với DMSO, nước hoặc cồn (tùy thuộc vào mỗi loại kháng sinh và yêu cầu của hãng sản xuất)

- Chia kháng sinh vào Tuýp 0,2 mL ( dài/gióng 8 giếng có nắp)

*Pha mẫu hợp chất*

- Thực hiện tại khu vực Lab 2: ATSH cấp 2

- Hợp chất tùy mỗi loại được pha loãng bằng Nước, cồn, DMSO

- Tính toán trọng lượng của hoạt tính sinh học, nếu là hợp chất tinh khiết thì tính thêm trọng lượng phân tử

- Dùng DMSO để pha loãng theo nồng độ cần thiết

- Lắc cho tan đều, nếu không tan hết thì cho vào máy siêu nghiền mẫu, thời gian tùy thuộc vào mẫu, để cho đến khi mẫu tan đều đồng nhất.

- Nhỏ mẫu hợp chất sinh học, hút vi khuẩn đã pha theo nồng độ yêu cầu.

- Mix cho tan đều và nhỏ mẫu vào môi trường nuôi cấy M7H11/ M7H9

Thực hiện thí nghiệm

- Thực hiện tại khu vực ATSH cấp 3

- Ghi số thứ tự, số mẫu thực hiện và ngày tháng năm lên phiếu 48-96 giếng

- Thực hiện nhỏ mẫu, kháng sinh, chủng chuẩn theo vị trí bản đồ mẫu

- Vì vi khuẩn lao mọc chậm nên các đĩa hoặc phiếu nuôi cấy phải bọc kín lại tránh khô môi trường thạch nuôi cấy và để trong tủ ẩm 37 °C / 14 ngày

- Lau đĩa/phiếu nuôi cấy với cồn 70 °C và đặt vào giá sạch

- Chuyển giá ra khỏi tủ ATSH để nuôi cấy trong tủ ẩm có 5% CO<sub>2</sub>/37 °C

- Thực hiện MIC trên môi trường M7H9

- Nhỏ 200 mL môi trường M7H9 hàng đầu tiên xung quanh phiếu 96 giếng (chứng âm)

- Nhỏ mẫu từ hàng thứ 2 đến 10 theo thứ tự dải nồng độ đã pha, pha loãng theo thứ tự giảm dần 1/2

- Hàng thứ 11 chỉ nhỏ vi khuẩn mà không có hợp chất

- Nuôi cấy trong 37 °C / 7 ngày

- Nhỏ 50mL Rezaurine vào tất cả các phiếu, tiếp tục nuôi cấy 37 °C / 24-28 h

- Đọc kết quả bằng máy

Thực hiện MIC trên môi trường M7H11

- Nhỏ 1 mL môi trường M7H11 vào tất cả phiếu 48 giếng

- Hợp chất đã pha theo yêu cầu được nhỏ vào giếng thứ 2 đến hàng thứ 11

- Chứng âm hàng số 1, chứng dương nhỏ hàng thứ 12

- Nuôi cấy theo dõi trong 14 ngày (bọc phiếu để tránh khô môi trường )

- Đối với môi trường lỏng M7H9: Sau khi thêm 100 mL Rerazurin thì tiếp tục nuôi cấy trong tủ ẩm 37độ C / 24 h, đọc kết quả với máy CLARIO Start.

- Đối với môi trường M7H11: nuôi cấy trong tủ ẩm 37 °C / và đọc kết quả từ ngày thứ 7 đến ngày thứ 14

- Kết quả được ghi nhận nếu nếu chứng âm và chứng dương đạt kết quả tốt, không bị nhiễm nấm, không bị khô môi trường, chứng dương vi khuẩn mọc tốt, chứng dương kháng sinh diệt được vi khuẩn.

4.1.2. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm

- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.



- Mẫu sau xét nghiệm sẽ được lưu giữ tại PTN:

Mẫu	Điều kiện	Thời gian lưu (sau khi trả kết quả)
Mẫu xét nghiệm dương tính	-20 °C	5 năm
Mẫu xét nghiệm âm tính	-20 °C	1 tháng

- Với những mẫu xét nghiệm không cần lưu, tiến hành huỷ mẫu theo quy định.

#### 4.2 Nhận định kết quả

##### 4.2.1 Xác định hiệu lực của lần xét nghiệm

- Mẫu dương tính:

Trên môi trường M7H9: chuyển màu cơ chất

Trên môi trường M7H11: vk mọc nhỏ, trong

- Mẫu âm tính

Trên môi trường M7H9: không chuyển màu cơ chất

Trên môi trường M7H11: không thấy vi khuẩn mọc

##### 4.2.2. Nhận định kết quả

###### *Xác định hiệu lực của lần xét nghiệm*

Cách đọc và nhận định kết quả căn cứ theo các nguyên tắc sau:

Trên môi trường M7H11

Phiến không bị nhiễm, không bị khô môi trường, chứng âm không có vi khuẩn mọc, chứng dương có vi khuẩn mọc tốt. Nếu các tiêu chuẩn này không đạt thì phải làm lại

+ Chứng âm: phải cho kết quả âm tính, tức là không thấy vi khuẩn mọc trên môi trường nuôi cấy. Nếu chứng âm cho kết quả dương tính mà không phải do nhầm mẫu, lẫn mẫu (mẫu từ giếng dương tính tràn vào giếng của mẫu âm tính, hoặc trong quá trình nhỏ vi khuẩn vào các giếng có hoạt chất nhưng có thể bị bắn sang mẫu âm) thì phải làm lại phản ứng.

+ Chứng dương: phải cho kết quả dương tính (Vi khuẩn mọc tốt trên tất cả môi trường nuôi cấy của chứng dương)

*Trên môi trường M7H9*

Chứng âm: phải cho kết quả âm tính, môi trường không chuyển màu Rerazurin, phân tích kết quả không thấy đường cong chỉ thị màu

Chứng dương: kết quả dương tính cho thấy môi trường chuyển từ màu xanh tím sang màu hồng tím nhẹ, sử dụng phần mềm YAPSmabapure3 phân tích kết quả thấy chứng dương hình cong đi lên đều hướng lên trên,

- Đối với mẫu nghi ngờ

Thực hiện lại kỹ thuật từ bước pha loãng mẫu và nhỏ mẫu

Thực hiện đo OD cho chủng H37Rv.

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1 Trả kết quả

- Nhập kết quả xét nghiệm vào biểu mẫu hoặc phần mềm cho phương pháp MIC
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả xét nghiệm chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả xét nghiệm.
- Trả kết quả xét nghiệm cho đúng đối tượng yêu cầu xét nghiệm hoặc cơ quan/người có thẩm quyền.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Biểu mẫu pha kháng sinh
2	Biểu mẫu pha môi trường M7H11, M7H9
3	Biểu mẫu làm MIC
4	Biểu mẫu pha hợp chất
5	Phiếu trả kết quả xét nghiệm

#### 4.3.3 Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

- Yếu tố ảnh hưởng bao gồm chất lượng mẫu, thời điểm lấy mẫu, chuẩn bị bệnh phẩm, chất lượng sinh phẩm, vật tư...
- Bệnh phẩm: điều kiện bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm không bảo đảm, nhiễm nấm,
- Chủng chuẩn
- Pha hợp chất và kháng sinh không chuẩn
- Môi trường dễ nhiễm nấm
- Sinh phẩm, vật tư tiêu hao bị nhiễm.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nêu chi tiết yếu tố ảnh hưởng đến quá trình xét nghiệm.

- Môi trường dễ nhiễm nấm do không bật đèn tím đủ thời gian trước và sau khi làm thí nghiệm

- Sinh phẩm không được bảo quản đúng cách, nhiễm chéo giữa các mẫu, nhầm lẫn các mẫu hoặc không tuân thủ đúng các bước pha loãng theo dải nồng độ

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Phiên giải kết quả: Vẫn thực hiện phiên giải khi các tiêu chí phản ứng không đạt yêu cầu, các bước thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các mẫu

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1 Nội kiểm

- Chứng âm là môi trường M7H11, M7h9

- Chứng dương là chủng chuẩn

- Chứng âm và chứng dương ngoài việc sử dụng để tính toán kết quả còn nhằm mục đích theo dõi chất lượng của xét nghiệm. Nếu các mẫu chứng không nằm trong giới hạn cho phép, cần hủy bỏ kết quả xét nghiệm lần đó và không được tính toán kết quả xét nghiệm .

### 6.2 Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn của hãng đối với các loại sinh phẩm

- Sanghyun Cho, Saradee Warit, Baojie Wan, Chang Hwa Hwang, Guido F.pauli, and Scott G. Franzblau. 2020. Low-Oxygen- Recovery Assay for High-Throughput Screening of Compounds against Nonreplicating Mycobacterium Tuýp rculosis.

- Cho S, Lee HS, Franzblau. 2015. Microplate Alamar Blue Assay (MABA) and Low Oxygen Recovery Assay (LORA) for Mycobacterium Tuýp rculosis.

- Tanya Parish, David M. Roberts. Mycobacteria protocol. Third Editon

- Shetye, Gauris S. Franzblau, Scott G, Cho Sanhyun. (2020). New Tuýp rculosis drug targets, their inhibitors, and protential therapeutic impact. Tranlational Research, 220, 68-97.

- Ran Chen. Culture and Detection of Mycobacterium Tuýp rculosis (MTB) and Mycobacterium Tuýp rculosis (BCG). Bio-protocol, 2012, Vol 2, Iss



## Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 252:

**KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ HỢP CHẤT TỐI THIỂU DIỆT VI KHUẨN  
*MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* (MBC)**

**1. ĐẠI CƯƠNG****1.1. Mục đích**

Quy trình xét nghiệm xác định nồng độ hợp chất tối thiểu diệt vi khuẩn *Mycobacterium Tuberculosis* (MBC) được thực hiện nhằm xác định nồng độ tối thiểu của hợp chất sinh học diệt vi khuẩn *Mycobacterium Tuberculosis*.

**1.2. Định nghĩa**

## 1.2.1. Giải thích từ ngữ

Không áp dụng

## 1.2.2. Từ viết tắt

- LJ            Môi trường Lowenstein Jensen
- M7H9        Môi trường Middlebrook 7H9
- M7H11        Môi trường Middlebrook M7H11
- MTB         *Mycobacteria Tuberculosis*
- OADC        Oleic acid albumin detrose catalase
- RIF           Rifampicin
- INH          Isoniazid
- LIZ          Linezolid
- MOX         Moxifloxacin
- PA-824        Petromanid
- TMC-  
207            Bedaquilin
- NC            Chứng âm
- PC            Chứng dương
- MBC         Minimal Bacterial Concentration
- PTN         Phòng thí nghiệm
- QLKT        Quản lý kỹ thuật

- QLCL Quản lý chất lượng

### 1.3. Nguyên lý

Xét nghiệm sàng lọc các hợp chất sinh học ở các dải nồng độ khác nhau trong điều kiện môi trường hiếu khí. Vi khuẩn MTB được nuôi cấy dựa vào đặc điểm nuôi cấy, một số tính chất chuyển hóa, các đặc điểm về hình thái vi khuẩn và dưới tác dụng của hợp chất có thể xác định khả năng sống sót của vi khuẩn để đánh giá khả năng ức chế hoặc diệt được vi khuẩn MTB.

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu, chuẩn bị mẫu, chuẩn bị máy, thực hiện xét nghiệm: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình được giao.

- Nhập, phân tích, quản lý dữ liệu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y, máy tính và công nghệ thông tin hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### 2.2. Vật tư

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

##### a. Dùng cho xét nghiệm:

- DMSO
- Nước cất vô trùng
- Môi trường M7H9
- Môi trường M7H11
- Môi trường LJ
- OADC
- Hợp chất sinh học: thô, cặn chiết, tinh chất
- Trứng gà
- Glycerol
- Nước sinh học phân tử
- Cồn 70%

*b. Mẫu chứng, mẫu chuẩn*

- Kháng sinh kháng lao dòng 1, 2 (Rifampicin, Isoniazid, Linezolid, Moxifloxacin, Petromanid, Bedaquiline )

- Chủng chuẩn quốc tế H37 Rv

2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Micropipet: 1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 100  $\mu$ L và 20  $\mu$ L

- Đầu côn (típ) các loại: 30  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L

- Phiến 48 giếng

- Đĩa petri 90 mm

- Tuýp nhựa 1,5 mL

- Găng tay không bột các cỡ

- Khẩu trang N95

- Khẩu trang y tế

- Bộ quần áo phòng hộ tyvec

- Hộp lưu mẫu 100 vị trí

- Túi/ can đựng đồ thải bỏ

- Giấy lau vệ sinh từ ATSH

- Ống thủy tinh nắp xoáy  $\Phi$ 18-20mm

- Ống thủy tinh  $\Phi$ 12mm

- Tuýp nhựa nắp xoáy 50mL

- Giá để tuýp.

- Vải xô

- Giấy thấm.

- Giấy bạc

- Chai vô trùng 250 mL, 500 mL

- Màng lọc sterile syringe 0,8 $\mu$ m

- Kim tiêm 10 mL

- Máng 50 mL

- Pipet nhựa 3 mL

- Bông y tế

- Bông không thấm nước

- Vải gạc xô

- Pipet nhựa khắc vạch 25 mL

- Ống đong 500 mL



- Cốc đong 1000 mL
- Bình nắp xoáy 500 mL và 1000 mL
- Phễu thủy tinh
- Thanh khuấy từ
- Kéo thẳng đầu nhọn
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

### 2.3. Thiết bị

- Máy vortex
- Máy spindown
- Máy hút chân không
- Máy siêu nghiền mẫu
- Máy ủ nhiệt
- Máy ly tâm
- Tủ an toàn sinh học
- Tủ ẩm có CO<sub>2</sub>
- Máy đo Mc Faland
- Tủ lạnh dương
- Tủ lạnh âm -80 °C
- Cân điện tử
- Máy khuấy từ có nhiệt
- Nồi hấp sấy tiệt trùng

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu

Không áp dụng

#### 2.4.2. Thu thập và xử lý mẫu ban đầu

- Loại mẫu xét nghiệm: Hợp chất sinh học
- Bảo quản, vận chuyển mẫu trong hộp tích lạnh.
- Mẫu phải có đầy đủ mã mẫu kèm thông tin mẫu theo yêu cầu của nghiên cứu.

### 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Không áp dụng

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Số ngày cần để thực hiện toàn bộ quy trình: 3 ngày.

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Kỹ thuật được thực hiện tại phòng thí nghiệm.

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học cấp 3 theo mức độ nguy cơ của tác nhân tương ứng với kỹ thuật thực hiện theo quy định về an toàn sinh học phòng xét nghiệm.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

##### a. Chuẩn bị môi trường LJ (100 ống, hạn dùng trong 1 tháng)

- Cân 18,6 g môi trường Lowenstein Medium Base
- Cho vừa đủ 300 mL nước cất
- Bổ sung 6 mL glycerol
- Đun sôi trên máy khuấy từ để hòa tan các thành phần
- Hấp ướt 121 °C / 15 phút
- Để nguội đến 60 °C
- Bổ sung 500 mL trứng gà đã khuấy tan và lọc qua vải xô (lau vỏ trứng bằng cồn trước khi đập lấy lòng đỏ và trắng)
- Chia ra ống nuôi cấy thủy tinh 18 mm, 20 mm (7 mL-8 mL/ống)
- Để nhiệt độ 85 °C / 30 phút, không mở nắp tủ sấy
- Sau 12 h tiếp tục để nhiệt độ 85 °C / 30 phút
- Để tủ ấm 37 °C qua 12-24h, kiểm tra xem có nhiễm nấm
- Lưu giữ trong tủ lạnh (2-8) °C
- Ghi ngày pha và số lượng cân đong

##### b. Nuôi cấy vi khuẩn lao

- Nuôi cấy vi khuẩn lao đối với môi trường LJ ở tủ ấm 37 °C / 4 -8 tuần, gặt và lọc VK bằng sterilize filter 0,8 µm.

- Ghi ngày và mã ống chủng

##### c. Đo độ huyền phù của MTB

Độ huyền phù của vi khuẩn theo nồng độ CFU khác nhau tương đương CFU=10<sup>8</sup>; 10<sup>7</sup>; 10<sup>6</sup>; 10<sup>5</sup>

Lưu ý: Nếu có sẵn chủng chuẩn, có thể nuôi cấy VK MTB trên môi trường lỏng M7H9. Chuẩn bị 200 mL môi trường M7H9 + 10% OADC, thêm 20 µL vi khuẩn, nuôi cấy để tủ ấm 37 °C / 14 ngày, ly tâm lấy cặn, rửa VK bằng PBSx1, đo độ đục Mc Faland.

*d. Chuẩn bị môi trường M7H11*

- Pha môi trường, hấp sấy 121 °C / 15 phút
- Bổ sung 10% OADC
- Đổ môi trường ra phiến 48 giếng/ đĩa petri 90mm
- Để môi trường trong tủ ấm 37 °C, 12-24h để kiểm tra lại xem có nhiễm nấm
- Ghi ngày pha và số lượng cân đong

*e. Pha kháng sinh*

- Cân kháng sinh vào Tuýp 1,5 mL hoặc 2 mL
- Kháng sinh pha loãng theo nồng độ yêu cầu với DMSO, nước hoặc cồn (tùy thuộc vào mỗi loại kháng sinh và yêu cầu của hãng sản xuất)
- Chia kháng sinh vào Tuýp 0,2 mL (dải/giống 8 giếng có nắp)
- Ghi lượng kháng sinh và nồng độ

*f. Pha mẫu hợp chất*

- Thực hiện tại khu vực Lab ATSH cấp II
- Hợp chất tùy mỗi loại được pha loãng bằng nước vô trùng, cồn, DMSO
- Tính toán trọng lượng của hoạt tính sinh học, nếu là hợp chất tinh khiết thì tính thêm trọng lượng phân tử
- Dùng DMSO để pha loãng theo nồng độ cần thiết theo trọng lượng của hợp chất
- Lắc cho tan đều, nếu không tan hết thì cho vào máy siêu nghiền mẫu, thời gian tùy thuộc vào mẫu, để cho đến khi mẫu tan đều đồng nhất.
- Nhỏ mẫu hợp chất sinh học, hút một lượng vi khuẩn đã pha theo nồng độ yêu cầu.
- Mix cho tan đều và nhỏ mẫu vào môi trường nuôi cấy M7H11.

*g. Thực hiện kỹ thuật MBC*

- Ghi số thứ tự, số mẫu thực hiện và ngày tháng năm lên phiến 48 giếng
- Thực hiện nhỏ mẫu, kháng sinh, chủng chuẩn theo vị trí bản đồ mẫu
- Nhỏ 200 mL môi trường M7H9 vào xung quanh giếng đầu của phiến
- Nhỏ 200 mL môi trường M7H9 vào giếng thứ 2
- Nhỏ 100 mL môi trường M7H9 vào giếng còn lại
- Nhỏ lượng vi khuẩn vào phiến
- Vì vi khuẩn lao mọc chậm nên các đĩa hoặc phiến nuôi cấy phải bọc kín lại tránh khô môi trường thạch nuôi cấy và để trong tủ ấm 37 °C / 14 ngày
- Lau đĩa/ phiến nuôi cấy với cồn 70 °C và đặt vào giá sạch
- Chuyển giá ra khỏi tủ ATSH để nuôi cấy trong tủ ấm có 5% CO<sub>2</sub>/ 37 °C






#### *h. Thực hiện trên môi trường M7H11*

- Nhỏ 1 mL môi trường M7H11 vào tất cả phiến 48 giếng
- Hợp chất đã pha theo yêu cầu được nhỏ vào giếng thứ 2 đến hàng thứ 11
- Chứng âm hàng số 1, chứng dương nhỏ hàng thứ 12
- Nuôi cấy theo dõi trong 14 ngày (bọc phiến để tránh khô môi trường)
- Tiếp tục xác định và đếm Vi khuẩn trên đĩa Petri.

#### 4.1.2. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm
- +Khu vực làm việc: thực hiện theo quy trình kiểm soát điều kiện tiện nghi môi trường.
- +Trang thiết bị: thực hiện theo quy trình quản lý thiết bị.
- Xử lý rác thải: Thực hiện theo hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải.
- Mẫu sau xét nghiệm sẽ được lưu giữ tại PTN:

<b>Mẫu</b>	<b>Điều kiện</b>	<b>Thời gian lưu</b> (sau khi trả kết quả)
Mẫu xét nghiệm dương tính	2 °C đến 10 °C	1 tháng
Mẫu xét nghiệm âm tính	2 °C đến 10 °C	1 tháng
Mẫu hợp chất	-70 °C đến -80 °C	5 năm

- Với những mẫu xét nghiệm không cần lưu, tiến hành huỷ mẫu theo quy định.

#### **4.2. Nhận định kết quả**

##### 4.2.1. Đọc và phân tích kết quả

###### *a. Đọc kết quả*

- Thực hiện tại khu vực ATSH cấp 3
- Theo dõi khuẩn lạc mọc trên môi trường M7H11: nuôi cấy và đọc kết quả từ ngày thứ 7 đến ngày thứ 14

- Kết quả được ghi nhận nếu nếu chứng âm và chứng dương đạt kết quả tốt, không bị nhiễm nấm, không bị khô môi trường, chứng dương vi khuẩn mọc tốt, chứng dương kháng sinh diệt được vi khuẩn.

###### *b. Phân tích kết quả*

- Thực hiện tại khu vực ATSH cấp 3
- Phân tích kết quả trên môi trường nuôi cấy M7H11. Đọc kết quả từ ngày thứ 7 đến ngày thứ 14, ghi kết quả vào bảng theo dõi kết quả
- Kiểm tra kết quả sau khi nuôi cấy 1 tuần, ghi kết quả vào bảng theo dõi kết quả.

- Điều kiện để đọc kết quả là giếng chứng âm và giếng kháng sinh không có vi khuẩn mọc, còn vi khuẩn mọc tốt ở giếng chứng dương.

- Điều kiện để đọc kết quả là vi khuẩn phải mọc tốt ở môi trường đối chứng

- Lưu hồ sơ và/hoặc xuất dữ liệu.

- Mẫu hợp chất sinh học đánh giá là không diệt được vi khuẩn lao khi khuẩn lạc mọc trên môi trường nuôi cấy

- Mẫu hợp chất sinh học đánh giá là diệt được vi khuẩn lao khi khuẩn lạc không mọc (hoặc ức chế được 90% vi khuẩn lao trên môi trường nuôi cấy tùy thuộc vào nồng độ hợp chất và nồng độ vi khuẩn).

#### 4.2.2. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả căn cứ theo các nguyên tắc sau:

- Trên môi trường M7H11: Phiến không bị nhiễm, không bị khô môi trường, chứng âm không có vi khuẩn mọc, chứng dương có vi khuẩn mọc tốt. Nếu các tiêu chuẩn này không đạt thì phải làm lại

+Chứng âm: phải cho kết quả âm tính, tức là không thấy vi khuẩn mọc trên môi trường nuôi cấy.

+Chứng dương: phải cho kết quả dương tính (Vi khuẩn mọc tốt trên tất cả môi trường nuôi cấy của chứng dương)

- Đối với mẫu nghi ngờ

+ Thực hiện lại kỹ thuật từ bước pha loãng mẫu và nhỏ mẫu

+ Thực hiện đo OD của Vi khuẩn H37Rv.

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập dữ liệu vào máy tính.

- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả thí nghiệm chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.

- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả thí nghiệm.

- Trả kết quả thí nghiệm cho đúng đối tượng yêu cầu thí nghiệm hoặc cơ quan/người có thẩm quyền.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Biểu mẫu pha môi trường
2	Biểu mẫu cấy chủng và pha kháng sinh
3	Biểu mẫu kết quả nồng độ diệt

### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu 10 năm

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

- Chất lượng mẫu: hợp chất thô và cặn tinh chiết phải được đảm bảo trong quá trình tách chiết, tránh lây nhiễm, điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu

- Chứng dương: vi khuẩn và kháng sinh phải đảm bảo đúng nồng độ yêu cầu, điều kiện bảo quản

- Môi trường bị khô hoặc bị bay hơi nên cần bọc xung quanh môi trường.

- Môi trường bị nhiễm do quá trình pha nên để loại những ống/đĩa bị nhiễm cần để môi trường sau khi pha vào tủ âm qua đêm.

- Vật tư tiêu hao có thể bị nhiễm nên phải kiểm tra hạn sử dụng đối với vật tư dùng một lần và hấp vô trùng, ghi ngày hấp với những vật tư tái sử dụng

- Sinh phẩm có thể bị hỏng nên kiểm tra hạn sử dụng và quan sát những thay đổi của sinh phẩm khi mở ra sử dụng.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Hợp chất, cặn chiết không đồng nhất

- Mẫu bị nhiễm do sinh phẩm, vật tư tiêu hao bị nhiễm

- Nhiễm trong quá trình làm nên phải lau chùi vệ sinh và bật UV từ ATSH 30 phút trước và sau khi thực hiện kỹ thuật.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Phiên giải kết quả: Vẫn thực hiện phiên giải khi các tiêu chí phản ứng không đạt yêu cầu, các bước thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các mẫu

- Vào sổ và ghi chép sau khi thực hiện xong quy trình xét nghiệm có thể sai, nhầm lẫn và thiếu sót nên sau khi kết thúc cần bàn giao lại cho trường phòng hoặc cán bộ quản lý chất lượng rà soát lại.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm

- Chứng âm: môi trường M7H11

- Chứng dương: chủng vi khuẩn H37Rv

- Chứng dương: Kháng sinh kháng lao dòng 1 và 2 (Rifampicin, Isoniazid, Linezolid, Moxifloxacin, Petromanid, Bedaquiline)

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia Chương trình Ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.



## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cho S, Lee HS, Franzblau. Microplate Alamar Blue Assay (MABA) and Low Oxygen Recovery Assay (LORA) for *Mycobacterium Tuýp rculosis*. Methods Mol Biol. 2015;1285:281-92

- Tanya Parish, David M. Roberts. Mycobacteria protocol. Third Editon. Spring protocol. 2015

- Shetye, Gauris S. Franzblau, Scott G, Cho Sanhyun. New Tuýp rculosis drug targets, their inhibitors, and protential therapeutic impact. Tranlational Research. 2020; 220: 68-97.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 253:

**THỬ NGHIỆM SÀNG LỌC HOÁ CHẤT KHÁNG VI KHUẨN  
*MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS***

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình thử nghiệm sàng lọc hoá chất kháng vi khuẩn *Mycobacterium Tuberculosis* được thực hiện nhằm xác định khả năng diệt vi khuẩn *Mycobacterium Tuberculosis* của hoá chất trong mẫu xét nghiệm một cách an toàn, đáng tin cậy và kịp thời.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Không áp dụng

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

PTN	: Phòng thí nghiệm
QLKT	: Quản lý kỹ thuật
QLCL	: Quản lý chất lượng
LJ	: Môi trường Lowenstein Jensen
MTB	: <i>Mycobacteria Tuberculosis</i>

### **1.3. Nguyên lý**

Dựa vào khả năng sống sót của vi khuẩn dưới tác dụng của mẫu hoá chất khảo nghiệm để đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn lao hoặc diệt vi khuẩn lao của mẫu khảo nghiệm.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu, chuẩn bị mẫu, chuẩn bị máy, thực hiện xét nghiệm: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình được giao.

- Nhập, phân tích, quản lý dữ liệu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y, máy tính và công nghệ thông tin hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên

môn.

## 2.2. Vật tư

### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

#### a. Dùng cho xét nghiệm:

- Cồn 70% hoặc Javen 5%
- Môi trường thạch Lowenstein Medium Base
- Glycerol
- Trứng gà
- Nước cất 2 lần vô trùng
- Đệm PBS 1X.

#### b. Mẫu chứng, mẫu chuẩn

Chủng chuẩn quốc tế *H37Rv* và *M.terrae*

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Micropipet: 10-1000  $\mu$ L
- Pipet nhựa 3 mL
- Đầu côn (típ) có lọc: 10- 1000  $\mu$ L
- Giá đựng ống Falcon
- Giá đựng ống thủy tinh
- Hộp lưu mẫu 100 vị trí
- Găng tay không bột
- Khẩu trang N95
- Khẩu trang y tế
- Bộ quần áo tyvec
- Tuýp nắp xoáy 2 mL, tiệt trùng
- Tuýp nhựa 1,5- 2 mL, tiệt trùng
- Pipet khắc vạch 25 mL, tiệt trùng
- Ống thủy tinh nắp xoáy  $\Phi$ 18-20mm
- Ống thủy tinh  $\Phi$ 12mm
- Màng lọc Sterile syringe filter 0,8 $\mu$ m
- Giấy thấm.
- Giấy bạc
- Bút viết kính
- Phễu thủy tinh
- Ống đong 500 mL

*Handwritten signatures*



- Cốc đong 1000 mL
- Bình nắp xoáy 1000 mL
- Thanh khuấy từ
- Kéo thẳng đầu nhọn
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

### **2.3. Thiết bị**

- Tủ ẩm
- Tủ ATSH
- Mc đo Faland
- Máy ly tâm Tuýp 50 mL
- Máy vortex
- Nồi hấp sấy tiệt trùng
- Máy ly tâm lạnh
- Máy khuấy từ có nhiệt
- Cân điện tử

### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm**

#### **2.4.1. Chuẩn bị mẫu**

Không áp dụng

#### **2.4.2. Thu thập và xử lý mẫu ban đầu**

- Loại mẫu xét nghiệm: Hộp chất sinh học
- Bảo quản, vận chuyển mẫu trong hộp chống tràn đổ.
- Mẫu phải có đầy đủ mã mẫu kèm thông tin mẫu theo yêu cầu của nghiên cứu hoặc.
- Nếu là khách hàng mang đến cần có đầy đủ thông tin về thành phần của hóa chất diệt khuẩn.

### **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

- Điền phiếu yêu cầu kiểm tra về nồng độ và thời gian tiếp xúc của hóa chất với vi khuẩn
- Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm đảm bảo đủ các thông tin cần thiết.

### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Số ngày cần để thực hiện toàn bộ quy trình: 3 ngày.

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Kỹ thuật được thực hiện tại phòng thí nghiệm.

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học cấp 3 đối với chủng *H37Rv* và cấp 2 đối với chủng *M. terrae* theo mức độ nguy cơ của tác nhân tương ứng với kỹ thuật thực hiện theo quy định về an toàn sinh học phòng xét nghiệm.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

a. Chuẩn bị môi trường (100 ống, hạn dùng trong 1 tháng)

- Cân 18,6g môi trường Lowenstein Medium Base

- Cho vừa đủ 300 mL nước cất

- Bổ sung 6 mL glycerol

- Đun sôi trên máy khuấy từ để hòa tan các thành phần

- Hấp ướt 121 °C / 15 phút

- Để nguội đến 60 °C

- Bổ sung 500 mL trứng gà đã khuấy tan và lọc qua vải xô (lau vỏ trứng bằng cồn trước khi đập lấy lòng đỏ và trắng)

- Chia ra ống nuôi cấy thủy tinh 18 mm, 20 mm (7 mL-8 mL/ống)

- Để nhiệt độ 85 °C / 30 phút, không mở nắp tủ sấy

- Sau 12 h tiếp tục để nhiệt độ 85 °C / 30 phút

- Để tủ ấm 37 °C qua 12-24h, kiểm tra xem có nhiễm nấm

- Lưu giữ trong tủ lạnh (2-8) °C

- Ghi ngày pha và số lượng cân đong

b. Chuẩn bị chủng

- Lấy chủng ra khỏi tủ -70 °C

- Để tan đông ở nhiệt độ phòng thí nghiệm

- Thực hiện tại khu vực ATSH cấp 3 đối với chủng *H37Rv* và cấp 2 đối với chủng *M.terrae*

- Dùng pipet hút 100 ul vi khuẩn MTB cho vào môi trường LJ, mỗi chủng nuôi cấy 3 Tuýp

- Cấy chủng chuẩn

- Đậy nắp môi trường nuôi cấy sau đó mở ra khoảng nửa vòng

- Nuôi cấy vi khuẩn MTB trong tủ ấm 37 °C / 4-8 tuần

- Vặn chặt nắp nuôi cấy sau 1 tuần để tránh làm khô môi trường

- Theo dõi sự phát triển của vi khuẩn

*c. Đo độ đục*

- Chủng chuẩn MTB được hoà tan trong nước vô trùng và lắc đồng nhất
- Sử dụng PBS 1X để rửa làm tinh sạch chủng vi khuẩn MTB
- Ly tâm, hút bỏ dịch nổi, lấy cặn vi khuẩn
- Hoàn nguyên bằng nước muối sinh lý 0,9%
- Lọc vi khuẩn bằng bơm tiêm 10mL+ sterilize filter 0,8  $\mu\text{m}$ .(trường hợp không có lọc thì mix đều cho đến khi thu được dịch đồng nhất)
- Đo Mc Farland ở các độ đục khác nhau tương đương CFU= $10^8$ ;  $10^7$ ;  $10^6$ ;  $10^5$ ;  $10^4$ ;  $10^3$

*d. Thử nghiệm hoạt tính*

- Chuẩn bị dung dịch vi khuẩn MTB theo nồng độ CFU= $10^8$ ;  $10^7$ ;  $10^6$ ;  $10^5$ ;  $10^4$ ;  $10^3$
- Cho 90ul chất chất cần khảo nghiệm tiếp xúc với 10  $\mu\text{L}$  dung dịch vi khuẩn với từng nồng độ vi khuẩn và để thời gian tiếp xúc theo yêu cầu của mẫu thử hoạt tính
- Làm tương tự với chứng dương, nhưng thay vì cho hóa chất khảo nghiệm ta cho nước muối sinh lý 0,9%
- Ống chứng âm chỉ cho 100  $\mu\text{L}$  hóa chất khảo nghiệm
- Cho 1 mL chất dừng phản ứng hoặc 1 mL nước cất vô trùng để dừng phản ứng vào các ống mẫu và ống chứng
- Nhỏ 100  $\mu\text{L}$  ở mỗi ống mẫu và ống chứng dương, âm vào môi trường LJ
- Nuôi cấy ở trong tủ ấm 37 °C
- Theo dõi và đọc kết quả khảo nghiệm từ 4-8 tuần

4.1.2. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm
- Khu vực làm việc: thực hiện theo quy trình kiểm soát điều kiện tiện nghi môi trường
- Trang thiết bị: thực hiện theo quy trình quản lý thiết bị
- Xử lý rác thải: Thực hiện theo hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải
- và quy trình “Thu gom và xử lý chất thải lây nhiễm”
- Mẫu sau xét nghiệm sẽ được lưu giữ tại PTN:

Mẫu	Điều kiện	Thời gian lưu (sau khi trả kết quả)
Mẫu xét nghiệm dương tính	Nhiệt độ phòng	1 năm



Mẫu xét nghiệm âm tính	Nhiệt độ phòng	1 năm
Mẫu hóa chất	Nhiệt độ phòng	1 năm

- Với những mẫu xét nghiệm không cần lưu, tiến hành huỷ mẫu theo quy định.

### **Nhận định kết quả**

- Kiểm tra các ống nuôi cấy sau 1 tuần nuôi cấy
- Tiếp tục kiểm tra các ống nuôi cấy sau 2, 4, 6, 8 tuần nuôi cấy, ghi lại các kết quả sau mỗi lần kiểm tra
- So ống mẫu với ống chứng dương, ghi lại các kết quả sau mỗi lần kiểm tra
- Loại bỏ ống bị nhiễm nấm, hoá lỏng, môi trường chuyển màu xanh
- Trường hợp ống nuôi cấy bị nhiễm ít vẫn duy trì theo dõi
- Trên môi trường thạch LJ khuẩn lạc mọc xù xì và khô có màu và hình cây súp lơ màu trắng đục
- Ống chứng dương vi khuẩn MTB mọc tốt và số khuẩn lạc giảm dần theo nồng độ
- Ống chứng âm môi trường thuần không có vi khuẩn mọc

## **4.2. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ**

### **4.3.1. Trả kết quả**

- Nhập dữ liệu vào máy tính.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả thí nghiệm chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả thí nghiệm.
- Trả kết quả thí nghiệm cho đúng đối tượng yêu cầu thí nghiệm hoặc cơ quan/người có thẩm quyền.

### **4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu**

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Biểu mẫu yêu cầu xét nghiệm
2	Biểu mẫu nuôi cấy và pha hóa chất
3	Biểu mẫu kết quả sàng lọc hóa chất kháng vi khuẩn <i>M. Tủyp reulosis</i>
4	Phiếu trả kết quả xét nghiệm

### **4.3.3. Hồ sơ**

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu ở dạng văn bản hoặc điện tử
- Thời gian lưu 5 năm

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ LÝ

### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

- Môi trường bị khô hoặc bị bay hơi nên cần bọc xung quanh môi trường.
- Môi trường bị nhiễm do quá trình pha nên để loại những ống/đĩa bị nhiễm cần để môi trường sau khi pha vào tủ ấm qua đêm.
- Vật tư tiêu hao có thể bị nhiễm nên phải kiểm tra hạn sử dụng đối với vật tư dùng một lần và hấp vô trùng, ghi ngày hấp với những vật tư tái sử dụng
- Sinh phẩm có thể bị hỏng nên kiểm tra hạn sử dụng và quan sát những thay đổi của sinh phẩm khi mở ra sử dụng.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bị nhiễm do sinh phẩm, vật tư tiêu hao bị nhiễm
- Nhiễm trong quá trình làm nên phải lau chùi vệ sinh và bật UV tủ ATSH 30 phút trước và sau khi thực hiện kỹ thuật.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Phiên giải kết quả: Vẫn thực hiện phiên giải khi các tiêu chí phản ứng không đạt yêu cầu, các bước thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các mẫu
- Vào sổ và ghi chép sau khi thực hiện xong quy trình xét nghiệm có thể sai, nhầm lẫn và thiếu sót nên sau khi kết thúc cần bàn giao lại cho trưởng phòng hoặc cán bộ quản lý chất lượng rà soát lại.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm

- Chứng âm: môi trường chỉ có hóa chất
- Chứng dương: chủng chuẩn không hóa chất ở các nồng độ tương đương CFU=10<sup>8</sup>; 10<sup>7</sup>; 10<sup>6</sup>; 10<sup>5</sup>; 10<sup>4</sup>; 10<sup>3</sup>

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia Chương trình Ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Tanya Parish, David M. Roberts. Mycobacteria protocol. Third Edition. Spring protocol. 2015
- T Butt, R N Ahmad, S Y Karmi, A Mahmood. Rapid diagnosis of pulmonary Tuýperculosis by mycobacteriophage assay. Int J Tuýperculosis Lung Dis. 2004 Jul;8(7):899-902.
- Seema Irfan, Rumina Hasan, Akber Kanji, Qaiser Hssan, Iqbal Azarm. Evaluation of a microcolony detection method and phage assay for rapid detection of Mycobacterium Tuýperculosis in sputum samples. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2006 Nov; 37(6):1187-95.



## Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 254:

**ĐÁNH GIÁ TRỰC TIẾP HOẠT TÍNH KHÁNG/KHẢ NĂNG DIỆT  
VI RÚT CỦA CÁC CHẾ PHẨM/HÓA CHẤT/HOẠT CHẤT  
BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY TRÊN TẾ BÀO**

**1. ĐẠI CƯƠNG****1.1. Mục đích**

Quy trình “Đánh giá trực tiếp hoạt tính kháng/khả năng diệt vi rút của các chế phẩm/hóa chất/hoạt chất bằng phương pháp nuôi cấy trên tế bào” được thực hiện nhằm đánh giá trực tiếp khả năng làm mất hoạt tính gây nhiễm vi rút của chế phẩm trong mẫu xét nghiệm một cách an toàn, đáng tin cậy và kịp thời.

**1.2. Định nghĩa****1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Không áp dụng.

**1.2.2. Từ viết tắt**

CPE	: CytoPathic Effects (Hủy hoại tế bào)
CCID <sub>50</sub>	: Cell Culture Infective Dose (Liều hủy hoại 50% tế bào)
EV-A71	: Vi rút đường ruột typ 71
FBS	: Fetal Bovine Serum (Huyết thanh bê bào thai)
L20B	: Tế bào lympho chuột gấn thụ thể đặc hiệu cho vi rút polio
MA104	: Tế bào biểu mô thận khỉ xanh Châu Phi
MEM	: Minimum Essential Medium (Môi trường dinh dưỡng tối thiểu)
NPEV	: Non-polio enteroviruses (Vi rút đường ruột không phải polio)
PV	: Poliovirus (Vi rút polio)
RD-A	: Tế bào ung thư cơ tim của người (Human Rhabdomyosarcom)
RV	: Rotavirus (Vi rút rota)
TCYTTG	: Tổ chức Y tế Thế giới.
VRĐR	: Vi rút đường ruột

**1.3. Nguyên lý**

Khi vi rút tiếp xúc với chế phẩm/hóa chất/hoạt chất (gọi chung là chế phẩm), dưới tác dụng của chế phẩm, vi rút sẽ bị mất khả năng gây hủy hoại tế bào. Vì vậy định lượng vi rút có trong mẫu sau khi cho mẫu tiếp xúc với chế phẩm rồi nuôi cấy vi rút trên tế bào sẽ đánh giá trực tiếp khả năng làm mất hoạt tính gây nhiễm của các vi rút bởi các chế phẩm. Quy trình được áp dụng khi chế phẩm không gây hại đến sự phát triển của tế bào và vi rút thử nghiệm có khả năng nuôi cấy trên tế bào đặc hiệu. Đánh giá khả năng làm mất hoạt tính gây nhiễm của vi rút bởi chế phẩm được xem xét ở hai nội dung: (ND 1)



Xác định chế phẩm có hoạt tính diệt vi rút hay không và (ND 2) Xác định mức độ diệt vi rút của chế phẩm.

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu, chuẩn bị mẫu, chuẩn bị máy, thực hiện xét nghiệm: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình được giao.

- Nhập, phân tích, quản lý dữ liệu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y, máy tính và công nghệ thông tin hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### 2.2. Vật tư

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

##### a. Dụng cụ xét nghiệm:

- Chai tế bào L20B (dành riêng cho vi rút polio) và/hoặc RD-A, Vero, Hep-2... (dành cho các VRĐR) đã mọc kín một lớp

- Sinh phẩm/Hóa chất nuôi cấy tế bào và vi rút:

+Môi trường giàu dinh dưỡng MEM hoặc DMEM

+Muối đệm PBS

+Huyết thanh bê bào thai bất hoạt

+Dung dịch L-Glutamine 200 mM

+Kháng sinh Penicillin-Streptomycin

+Dung dịch Sodium Bicarbonate 7,5%

+Dung dịch HEPES 1M

+Dung dịch đỏ phenol 0,4%

+Enzyme tách tế bào Trypsin –EDTA 0,5%

+Thuốc nhuộm xanh Trypan 0,1%

- Nước cất sấy tiệt trùng

- Chủng vi rút.

##### b. Mẫu chứng, mẫu chuẩn

Không áp dụng

## 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Đầu côn (típ) có lọc, tiệt trùng các loại: 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L
- Pipette nhựa tiệt trùng 5mL, 10mL.
- Chai nuôi cấy tế bào 25  $\text{cm}^2$
- Tấm nuôi cấy tế bào 96 giếng
- Tuýp 50 mL, 15 mL tiệt trùng
- Tuýp nắp xoáy tiệt trùng 5 mL, 2 mL
- Lọc môi trường 22  $\mu$ m
- khay đựng dung dịch tiệt trùng
- Hộp lưu mẫu 80-100 vị trí
- Các loại hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN: Gói khử nhiễm
- Găng tay không bột các cỡ
- Giấy thấm
- Khẩu trang y tế
- Bồng đếm tế bào
- Giá để tuýp
- Micropipet các loại
- Trọ pipet
- Chai thủy tinh 500 mL
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

## 2.3. Thiết bị

- Tủ an toàn sinh học cấp II
- Máy lắc
- Máy voltex
- Máy ly tâm
- Máy spindow
- Nồi hấp tiệt trùng
- Kính hiển vi quang học
- Tủ ấm  $\text{CO}_2$
- Nồi hấp tiệt trùng
- Tủ sấy khô tiệt trùng

- Máy khuấy từ gia nhiệt
- Cân điện tử
- Bể ủ nhiệt nước hoặc tương đương.
- Tủ lạnh
- Tủ lạnh âm
- Tủ lạnh âm sâu

#### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm**

##### **2.4.1. Chuẩn bị bệnh nhân**

Không áp dụng

##### **2.4.2. Thu thập và xử lý mẫu ban đầu**

- Theo yêu cầu của khách hàng.
- Ví dụ chế phẩm là nước rửa tay có chứa thành phần là hóa chất kháng vi rút hoặc dung dịch diệt khuẩn chứa nano bạc.

#### **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

- Xem biểu mẫu Phiếu yêu cầu xét nghiệm.

#### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

8 ngày.

#### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Thực hiện tại phòng xét nghiệm ATSH cấp II.

### **3. AN TOÀN**

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học cấp II đối với tác nhân có khả năng lây nhiễm.

### **4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH**

#### **4.1. Các bước thực hiện**

##### **4.1.1. Thực hiện kỹ thuật**

###### *a. Chuẩn bị mẫu*

- Kiểm tra và tiếp nhận mẫu theo Quy trình tiếp nhận yêu cầu xét nghiệm và Sổ tay dịch vụ khách hàng của đơn vị.

- Lập danh sách và nhập dữ liệu/thông tin các mẫu trước khi xét nghiệm hoặc phần mềm excel để quản lý.

- Xử lý mẫu ban đầu sẽ thực hiện theo yêu cầu cụ thể của khách hàng đối với từng chế phẩm.

- Thông thường, việc xử lý mẫu (nếu có, ví dụ pha loãng chế phẩm) được thực hiện tại khu vực thao tác với hóa chất hoặc trong tủ thao tác với hóa chất (tùy tình huống cụ thể).



*b. Kiểm tra khả năng gây độc tế bào của chế phẩm*

- Pha loãng chế phẩm trong môi trường.
- Sử dụng môi trường có chế phẩm để nuôi cấy và duy trì tế bào, ủ tại 37 °C, quan sát sự hủy hoại tế bào hàng ngày.
- Xác định nồng độ chế phẩm mà tại đây tế bào không bị gây độc.
- Lựa chọn nồng độ thích hợp của chế phẩm không gây độc tế bào và đảm bảo cho bước xét nghiệm tiếp theo.

*c. Chuẩn bị chủng vi rút*

- Xác định hiệu giá chủng vi rút: Hỗn dịch mẫu nuôi cấy vi rút (Ký hiệu là VR (A)) sẽ được pha loãng bậc 10, sau đó gây nhiễm mẫu vi rút pha loãng ở các nồng độ vào tế bào sống, theo dõi sự hủy hoại tế bào cho đến khi sự hủy hoại đạt ngưỡng ổn định.

- Tính hiệu giá vi rút theo công thức Kärber. CCID<sub>50</sub> là liều lây nhiễm được định nghĩa là sự pha loãng của vi rút cần thiết để lây nhiễm 50% tế bào. Đối với một số vi rút kỹ thuật trung hòa giảm đám hoại tử sẽ được sử dụng để đánh giá hiệu giá vi rút, đơn vị tính hiệu giá của vi rút sẽ là PFU.

- Quy trình thực hiện tham chiếu quy trình nuôi cấy và tính độ nhạy vi rút tương ứng với từng loại vi rút cụ thể như VRĐR, rota, cúm...

- Sau khi biết hiệu giá của chủng vi rút, tiến hành pha loãng vi rút để có hỗn dịch VR (B) là hỗn dịch sẽ được cho tiếp xúc với chế phẩm và gây nhiễm tế bào, đánh giá khả năng diệt vi rút của chế phẩm.

*d. Cho chế phẩm tiếp xúc với vi rút*

- Cho phép chế phẩm hấp phụ vi rút theo phương pháp "Suspension assays" hoặc "Finger pads" theo quy trình ASTM chuẩn E-1052 và E-1838-02.

- Đối với phương pháp "Suspension assays", tỷ lệ giữa chế phẩm và vi rút được tính toán dựa trên yêu cầu cụ thể của từng chế phẩm và nồng độ cuối cùng của chế phẩm không gây độc tế bào trong phản ứng.

- Cho chế phẩm tiếp xúc vi rút trong các khoảng thời gian khác nhau (nếu cần).

*e. Đánh giá khả năng làm mất hoạt tính gây nhiễm của vi rút bởi chế phẩm*

- Đối với ND 1 (Đánh giá khả năng diệt vi rút): Cho hỗn dịch chế phẩm và vi rút sau tiếp xúc gây nhiễm tế bào, ủ 37 °C trong tủ nuôi cấy.

- Đối với ND 2 (Đánh giá mức độ diệt vi rút của chế phẩm):

+Pha loãng bậc 10 hỗn dịch chế phẩm và vi rút (chủng gốc) sau tiếp xúc. Cho các hỗn dịch pha loãng gây nhiễm tế bào, ủ 37 °C trong tủ nuôi cấy.

+Đồng thời, hỗn dịch vi rút không tiếp xúc với chế phẩm (được điều chỉnh bằng môi trường duy trì để có nồng độ vi rút tương tự với nồng độ trong hỗn dịch chế phẩm và vi rút) được pha loãng bậc 10. Cho các hỗn dịch pha loãng gây nhiễm tế bào, ủ 37 °C trong tủ nuôi cấy.

- Chủng vi rút: Cho hỗn dịch môi trường (thay thế cho chế phẩm) và vi rút gây nhiễm tế bào, ủ 37 °C trong tủ nuôi cấy.

- Chứng chế phẩm: Cho hỗn dịch chế phẩm và môi trường (thay thế cho vi rút) gây nhiễm tế bào, ủ 37 °C trong tủ nuôi cấy. Đối với ND 2, có thể thực hiện loạt pha loãng bậc 10 chế phẩm và gây nhiễm tế bào.

- Chứng tế bào: Cho môi trường vào tế bào, ủ 37 °C trong tủ nuôi cấy.

- Theo dõi sự hủy hoại tế bào hàng ngày trong vòng 3 – 7 ngày (tùy yêu cầu cụ thể từng loại vi rút và tế bào).

- Lưu ý: Mỗi phản ứng được thực hiện ở độ lặp từ 3 đến 10 lần.

#### 4.1.2. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm

- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.

- Mẫu sau xét nghiệm sẽ được lưu giữ tại PTN trong vòng ít nhất 6 tháng.

- Với những mẫu xét nghiệm không cần lưu, tiến hành huỷ mẫu theo quy định.

### 4.2. Nhận định kết quả

#### 4.2.1. Xác định hiệu lực của lần xét nghiệm

- Đọc kết quả ở ngày thứ 3 - 7 của phản ứng. Dùng đọc kết quả khi sau 2 ngày liền kết quả đọc phản ứng giống hết nhau.

- Điều kiện phản ứng:

+ Tế bào chứng: Tế bào bình thường

+ Chứng chế phẩm: Tế bào bình thường tại các giếng có nồng độ chế phẩm yêu cầu.

+ Chứng vi rút: Tế bào hủy hoại hoàn toàn

+ Chuẩn độ ngược: Hiệu giá vi rút trong phản ứng ND 1 nằm trong khoảng cho phép 50 - 200 TCID<sub>50</sub>.

#### 4.2.2. Nhận định kết quả

- ND 1: Chế phẩm (tại nồng độ cụ thể, thời gian tiếp xúc cụ thể) có hoạt tính diệt vi rút (100 CCID<sub>50</sub>) nếu tại giếng/Tuýp phản ứng, tế bào vẫn bình thường.

- ND 2: Chế phẩm (tại nồng độ cụ thể, thời gian tiếp xúc cụ thể) có mức diệt vi rút 10<sup>n</sup> CCID<sub>50</sub>/mL khi so sánh nồng độ pha loãng cao nhất của loạt giếng/Tuýp hỗn dịch chế phẩm-vi rút đối với loạt giếng/Tuýp vi rút chứng mà tế bào vẫn bình thường.

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập dữ liệu vào biểu mẫu và nhập phần mềm excel để quản lý.

- Trả kết quả xét nghiệm theo quy trình trả kết quả của đơn vị.

- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả xét nghiệm chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.

- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả xét nghiệm.



- Trả kết quả xét nghiệm cho đúng đối tượng yêu cầu xét nghiệm hoặc cơ quan/người có thẩm quyền.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Biểu mẫu chuẩn bị môi trường và pha dung dịch
2	Biểu mẫu đánh giá khả năng gây độc tế bào của chế phẩm
3	Biểu mẫu chuẩn độ xác định hiệu giá chủng vi rút
4	Biểu mẫu đánh giá khả năng làm mất hoạt tính gây nhiễm của vi rút bởi chế phẩm
5	Biểu mẫu nhận định kết quả

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm.

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

- Chất lượng mẫu: Mẫu có điều kiện bảo quản không bảo đảm
- Sinh phẩm và hóa chất quá hạn sử dụng hoặc điều kiện bảo quản không bảo đảm.
- Vật tư tiêu hao quá hạn sử dụng.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tế bào không đảm bảo độ nhạy hoặc bị nhiễm
- Vi rút không đảm bảo hiệu giá
- Chế phẩm gây hại sự phát triển tế bào

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Yếu tố ảnh hưởng đối với nhận định, phiên giải kết quả ví dụ thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các mẫu.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Nội kiểm

- Chứng tế bào: trong mỗi loạt thử nghiệm đều bố trí các giếng chứng tế bào là giếng chỉ có môi trường và tế bào
- Chứng vi rút: trong mỗi loạt thử nghiệm đều bố trí chứng vi rút là giếng chỉ có chứa vi rút với độ pha loãng xác định và tế bào.
- Chứng chế phẩm: trong mỗi loạt thử nghiệm đều bố trí chứng chế phẩm để xác



định độc tính của chế phẩm với tế bào, đây là giếng chỉ có chứa chế phẩm với nồng độ tương ứng nồng độ trong phản ứng và tế bào, không có vi rút.

- Chuẩn độ ngược vi rút: trong mỗi loạt thử nghiệm, là loạt pha loãng chủng vi rút kết hợp với tế bào nhằm xác định hiệu giá vi rút thực của chủng vi rút đang xét nghiệm.

## 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Không áp dụng

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- <https://www.astm.org/e1052-96.html>

- <https://webstore.ansi.org/standards/astm/astme183802>

- Larson EL, Cohen B, Baxter KA. Analysis of alcohol-based hand sanitizer delivery systems: efficacy of foam, gel, and wipes against influenza A (H1N1) virus on hands. *Am J Infect Control*. 2012 Nov;40(9):806-9. doi: 10.1016/j.ajic.2011.10.016.

- Macinga DR, Sattar SA, Jaykus LA, Arbogast JW. Improved inactivation of nonenveloped enteric viruses and their surrogates by a novel alcohol-based hand sanitizer. *Appl Environ Microbiol*. 2008 Aug;74(16):5047-52. doi: 10.1128/AEM.00487-08.

- Polio laboratory manual, 4th edition, 2004.

- Sattar SA, Ansari SA. The fingerpad protocol to assess hygienic hand antiseptics against viruses. *J Virol Methods*. 2002 May 16;103(2):171-81. doi: 10.1016/s0166-0934(02)00025-3.

- Tuladhar E, Hazeleger WC, Koopmans M, Zwietering MH, Duizer E, Beumer RR. Reducing viral contamination from finger pads: handwashing is more effective than alcohol-based hand disinfectants. *J Hosp Infect*. 2015 Jul;90(3):226-34. doi: 10.1016/j.jhin.2015.02.019.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 255:**  
**ĐÁNH GIÁ GIÁN TIẾP HOẠT TÍNH KHÁNG/KHẢ NĂNG**  
**DIỆT VI RÚT CỦA CÁC CHẾ PHẨM/HÓA CHẤT/HOẠT CHẤT**  
**BẰNG PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC PHÂN TỬ**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình “Đánh giá gián tiếp hoạt tính kháng/khả năng diệt vi rút của các chế phẩm/hóa chất/hoạt chất bằng phương pháp sinh học phân tử” được thực hiện nhằm đánh giá gián tiếp khả năng làm mất hoạt tính gây nhiễm vi rút của chế phẩm trong mẫu xét nghiệm một cách an toàn, đáng tin cậy và kịp thời.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Không áp dụng.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

CPE	: CytoPathic Effects (Hủy hoại tế bào)
CCID <sub>50</sub>	: Cell Culture Infective Dose (Liều hủy hoại 50% tế bào)
EV-A71	: Vi rút đường ruột typ 71
FBS	: Fetal Bovine Serum (Huyết thanh bê bào thai)
L20B	: Tế bào lympho chuột gần thụ thể đặc hiệu cho vi rút polio
MA104	: Tế bào biểu mô thận khỉ xanh Châu Phi
MEM	: Minimum Essential Medium (Môi trường dinh dưỡng tối thiểu)
NPEV	: Non-polio enteroviruses (Vi rút đường ruột không phải polio)
PV	: Poliovirus (Vi rút polio)
RD-A	: Tế bào ung thư cơ tim của người (Human Rhabdomyosarcom)
RV	: Rotavirus (Vi rút rota)
TCYTTG	: Tổ chức Y tế Thế giới.
VRDR	: Vi rút đường ruột

### **1.3. Nguyên lý**

Khi vi rút tiếp xúc với chế phẩm/hóa chất/hoạt chất (gọi chung là chế phẩm), dưới tác dụng của chế phẩm, kháng nguyên bề mặt hay vật liệu di truyền của vi rút sẽ bị phá hủy, đồng nghĩa với hạt vi rút (virion) không còn nguyên vẹn, vi rút sẽ bị mất khả năng gây nhiễm. Vì vậy, sự định lượng và định tính kháng nguyên hoặc vật liệu di truyền từ mẫu vi rút sau khi tiếp xúc với giúp đánh giá gián tiếp khả năng làm mất hoạt tính gây nhiễm của các vi rút. Quy trình được áp dụng khi chế phẩm/hóa chất/hoạt chất gây hại đến sự phát triển của tế bào và/hoặc khi vi rút thử nghiệm không có khả năng nuôi cấy

trên tế bào đặc hiệu.

Quy trình này sẽ trình bày phương pháp sinh học phân tử định tính và định lượng vật liệu di truyền, thông qua đó đánh giá gián tiếp khả năng làm mất hoạt tính gây nhiễm của các vi rút bởi các chế phẩm. Đánh giá khả năng phá hủy vật liệu di truyền của vi rút bởi chế phẩm được xem xét ở hai nội dung: (ND 1) Xác định chế phẩm có hoạt tính phá hủy vật liệu di truyền của vi rút hay không và (ND 2) Xác định mức độ phá hủy vật liệu di truyền vi rút của chế phẩm.

Phương pháp sinh học phân tử sử dụng là real-time PCR TaqMan là một phương pháp *in vitro* để tổng hợp và định lượng tương đối/tuyệt đối (nếu có gam chuẩn ngoài) một trình tự xác định ADN.

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu, chuẩn bị mẫu, chuẩn bị máy, thực hiện xét nghiệm: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình được giao.

- Nhập, phân tích, quản lý dữ liệu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y, máy tính và công nghệ thông tin hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### 2.2. Vật tư

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

##### a. Dùng cho xét nghiệm:

- Sinh phẩm tách chiết RNA
- Cồn tuyệt đối
- Sinh phẩm khuếch đại realtime RT-PCR
- Bộ Primer/Probe đặc hiệu với đối tượng vi rút cần thử nghiệm
- Nước sinh học phân tử
- Tham khảo các quy trình RT-PCR hoặc realtime RT-PCR phát hiện VRDR, rota, noro... để thêm chi tiết đặc trưng riêng cho từng loại vi rút.
- Chủng vi rút.
- Chai 75cm<sup>2</sup> tế bào L20B (dành riêng cho vi rút polio) và/hoặc RD-A, Vero, Hep-2... (dành cho các loại VRDR)
- Sinh phẩm/Hóa chất nuôi cấy tế bào và vi rút:



- +Môi trường MEM hoặc DMEM
- +Muối đệm PBS
- +Huyết thanh bê bào thai bất hoạt
- +Dung dịch L-Glutamine 200 mM
- +Kháng sinh Penicillin Streptomycin
- +Dung dịch Sodium Bicarbonate 7,5%
- +Dung dịch HEPES 1M
- +Dung dịch đỏ phenol 0,4%
- +Enzyme tách tế bào Trypsin –EDTA 0,5%
- +Thuốc nhuộm xanh Trypan 0,1%
- Nước cất sấy tiệt trùng
- Bảo quản sinh phẩm theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

*b. Mẫu chứng, mẫu chuẩn*

Không áp dụng

2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Đầu côn có lọc, tiệt trùng các loại: 10  $\mu$ L, 30  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L.
- Pipette nhựa tiệt trùng 5 mL, 10 mL.
- Chai 75 cm<sup>2</sup> nuôi cấy tế bào
- Tấm nuôi cấy tế bào 96 giếng
- Tuýp 50 mL, 15 mL tiệt trùng
- Tuýp nắp xoáy tiệt trùng 5 mL, 2 mL
- Tuýp ly tâm 1,5-2 mL, nắp bật
- Tấm phản ứng real-time và nắp đậy tương ứng với thiết bị (loại 0,1 mL hoặc 0,2 mL hoặc 0,5 mL có nắp tương ứng hoặc dải/giống 8 giếng có nắp tương ứng hoặc tấm nhựa 3 giếng x 8 giếng có nắp tương ứng hoặc tấm nhựa 96 giếng có nắp tương ứng hoặc ống thủy tinh...).
- Lọc môi trường 22  $\mu$ m
- Khay đựng dung dịch tiệt trùng
- Hộp lưu mẫu 80-100 vị trí
- Các loại vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN: Gói khử nhiễm
- Găng tay không bột các cỡ
- Giấy thấm
- Khẩu trang y tế
- Buồng đếm tế bào

- Giá đỡ tuýp
- khay lạnh
- Micropipet các cỡ
- Trọ pipet
- Chai thủy tinh 500 mL
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...
- Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### **2.3. Thiết bị**

- Máy real-time PCR.
- Máy PCR.
- Tủ an toàn sinh học cấp II
- Máy lắc
- Máy vortex
- Máy ly tâm
- Máy spindow
- Nồi hấp tiệt trùng
- Kính hiển vi quang học
- Tủ ấm CO<sub>2</sub>
- Nồi hấp tiệt trùng
- Tủ sấy khô tiệt trùng
- Máy khuấy từ gia nhiệt
- Cân điện tử
- Bể ủ nhiệt nước hoặc tương đương.
- Tủ lạnh
- Tủ lạnh âm
- Tủ lạnh âm sâu

### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm**

#### **2.4.1. Chuẩn bị bệnh nhân**

Không áp dụng

#### **2.4.2. Thu thập và xử lý mẫu ban đầu**

Theo yêu cầu của khách hàng.

Ví dụ chế phẩm là nước rửa tay có chứa thành phần là hóa chất kháng vi rút hoặc

dung dịch diệt khuẩn chứa nano bạc.

### **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

Xem biểu mẫu Phiếu yêu cầu xét nghiệm.

### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

3 ngày.

### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Thực hiện tại phòng xét nghiệm ATSH cấp II.

## **3. AN TOÀN**

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học cấp II đối với tác nhân có khả năng lây nhiễm.

## **4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **4.1. Các bước thực hiện**

#### **4.1.1. Thực hiện kỹ thuật**

##### *a. Chuẩn bị mẫu*

- Kiểm tra và tiếp nhận mẫu theo Quy trình tiếp nhận yêu cầu xét nghiệm và Sổ tay dịch vụ khách hàng của đơn vị.

- Lập danh sách và nhập dữ liệu/thông tin các mẫu trước khi xét nghiệm hoặc phần mềm excel để quản lý.

- Xử lý mẫu ban đầu sẽ thực hiện theo yêu cầu cụ thể của khách hàng đối với từng chế phẩm.

- Thông thường, việc xử lý mẫu (nếu có, ví dụ pha loãng chế phẩm) được thực hiện tại khu vực thao tác với hóa chất hoặc trong tủ thao tác với hóa chất (tùy tình huống cụ thể).

##### *b. Kiểm tra khả năng gây độc tế bào của chế phẩm*

- Bước này chỉ thực hiện nếu muốn kiểm tra liệu chế phẩm có gây độc tế bào và phải loại trừ kỹ thuật đánh giá trực tiếp hoạt tính diệt vi rút của chế phẩm bằng phương pháp nuôi cấy. Nếu tại tỷ lệ pha loãng chế phẩm cao nhất được chỉ định mà vẫn gây hại tế bào, tiến hành lựa chọn kỹ thuật đánh giá

- Các bước thực hiện

+Pha loãng chế phẩm trong môi trường.

+Sử dụng môi trường có chế phẩm để nuôi cấy và duy trì tế bào, ủ tại 37 °C, quan sát sự hủy hoại tế bào hàng ngày.

+Xác định nồng độ chế phẩm mà tại đây tế bào không bị gây độc.

+Lựa chọn nồng độ thích hợp của chế phẩm không gây độc tế bào và đảm bảo cho bước xét nghiệm tiếp theo.

##### *c. Chuẩn bị chủng vi rút*

- Đối với các vi rút có khả năng nuôi cấy trên dòng tế bào đặc hiệu:



+Xác định hiệu giá chủng vi rút: Hỗn dịch mẫu nuôi cấy vi rút (Ký hiệu là VR (A)) sẽ được pha loãng bậc 10, sau đó gây nhiễm mẫu vi rút pha loãng ở các nồng độ vào tế bào sống, theo dõi sự hủy hoại tế bào cho đến khi sự hủy hoại đạt ngưỡng ổn định (ít nhất hai ngày liên tục mà sự hủy hoại tế bào không thay đổi, thường ở ngày thứ 5 đến ngày thứ 7 sau gây nhiễm). Tính hiệu giá vi rút theo công thức Kärber. CCID50 là liều lây nhiễm được định nghĩa là sự pha loãng của vi rút cần thiết để lây nhiễm 50% tế bào. Đối với một số vi rút kỹ thuật trung hòa giảm đám hoại tử sẽ được sử dụng để đánh giá hiệu giá vi rút, đơn vị tính hiệu giá của vi rút sẽ là PFU.

+Sau khi biết hiệu giá của chủng vi rút, tiến hành pha loãng vi rút để có hỗn dịch VR (B) là hỗn dịch sẽ được cho tiếp xúc với chế phẩm để đánh giá khả năng diệt vi rút của chế phẩm.

- Đối với các vi rút không có khả năng nuôi cấy trên dòng tế bào đặc hiệu (Ví dụ vi rút noro):

+Sử dụng phương pháp siêu ly tâm để tinh sạch vi rút (Tương đương với hỗn dịch nuôi cấy VR (A) ở trên).

+Tách chiết và định lượng nồng độ RNA/DNA của vi rút.

+Lựa chọn nồng độ pha loãng thích hợp của vi rút, tương đương với số bản sao RNA/DNA trong một phản ứng tiếp xúc với chế phẩm (Tương đương với hỗn dịch VR (B) ở trên).

*d. Cho chế phẩm tiếp xúc với vi rút*

- Cho phép chế phẩm hấp phụ vi rút theo phương pháp "Suspension assays" hoặc "Finger pads" theo quy trình ASTM chuẩn E-1052 và E-1838-02.

- Đối với phương pháp "Suspension assays", tỷ lệ giữa chế phẩm và vi rút được tính toán dựa trên yêu cầu cụ thể của từng chế phẩm và nồng độ cuối cùng của chế phẩm không gây độc tế bào trong phản ứng.

- Cho chế phẩm tiếp xúc vi rút trong các khoảng thời gian khác nhau (nếu cần).

*e. Đánh giá khả năng làm mất hoạt tính gây nhiễm của vi rút bởi chế phẩm*

- Đối với ND 1 (Đánh giá khả năng diệt vi rút):

+Tách chiết DNA/RNA từ hỗn dịch chế phẩm và VR (B) sau tiếp xúc.

+Thực hiện phản ứng realtime PCR/RT-PCR (có thể thay thế bằng kỹ thuật PCR/RT-PCR) xác định sự có mặt/phá hủy của vật liệu di truyền.

+Quy trình thực hiện tham chiếu quy trình real-time PCR/RT-PCR tương ứng với từng loại vi rút cụ thể, ví dụ VRĐR, rota, noro...

- Đối với ND 2 (Đánh giá mức độ diệt vi rút của chế phẩm):

+Tách chiết DNA/RNA hỗn dịch chế phẩm và VR (A) sau tiếp xúc. Pha loãng bậc 10 mẫu DNA/RNA. Thực hiện phản ứng realtime qPCR/RT-PCR.

+Đồng thời tách chiết DNA/RNA từ hỗn dịch VR (A) đã được điều chỉnh bằng môi trường/PBS/Nước sinh học phân tử để có nồng độ vi rút tương tự với nồng độ trong hỗn dịch chế phẩm và vi rút ở trên. Pha loãng bậc 10 mẫu DNA/RNA. Thực hiện phản

ứng realtime PCR/RT-PCR đồng thời với loạt pha loãng DNA/RNA của mẫu VR (A) + chế phẩm ở trên.

+Định lượng DNA/RNA trong hai loạt mẫu pha loãng và đánh giá kết quả.

- Quy trình thực hiện tham chiếu quy trình realtime PCR/RT-PCR tương ứng với từng loại vi rút cụ thể, ví dụ VRĐR, rota, noro...

- Lưu ý: Mỗi phản ứng được thực hiện ở độ lặp từ 3 đến 10 lần.

#### 4.1.2. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm

- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.

- Mẫu sau xét nghiệm sẽ được lưu giữ tại PTN trong vòng ít nhất 6 tháng.

- Với những mẫu xét nghiệm không cần lưu, tiến hành huỷ mẫu theo quy định.

### 4.2. Nhận định kết quả

#### 4.2.1. Xác định hiệu lực của lần xét nghiệm

- Đọc kết quả mẫu chứng:

+Chứng âm: Không có tín hiệu huỳnh quang (đối với realtime PCR/RT-PCR) hoặc không có băng sản phẩm PCR trên gel (đối với PCR/RT-PCR).

+Chứng dương: Đường tín hiệu huỳnh quang điển hình, giá trị Ct nằm trong khoảng  $\pm 2SD$  của giá trị yêu cầu đối với mẫu chuẩn (đối với realtime PCR/RT-PCR) hoặc có băng sản phẩm PCR trên gel (đối với PCR/RT-PCR).

+Chứng chế phẩm: Không có tín hiệu huỳnh quang (đối với realtime PCR/RT-PCR) hoặc không có băng sản phẩm PCR trên gel (đối với PCR/RT-PCR).

+Bộ mẫu chuẩn (Dành riêng ND 2 và đối với realtime PCR/RT-PCR):

•Đường chuẩn là kết quả khuếch đại của các mẫu được gán là các mẫu chuẩn (mẫu chuẩn/gam chuẩn ngoài) và dựa vào đường chuẩn này, phần mềm của thiết bị sẽ định lượng cho mẫu xét nghiệm.

•Khi phân tích đường chuẩn, cần xem xét các giá trị hệ số hồi quy sau: (1) Độ dốc/Hiệu quả khuếch đại: Độ dốc nằm trong khoảng giá trị khuyến cáo của nhà sản xuất đảm bảo hiệu quả khuếch đại của phản ứng. Thông thường, độ dốc gần (-3,3) là tối ưu, tức là hiệu quả khuếch đại gần như 100%; (2) Giá trị bình phương hệ số tương quan ( $R^2$ ):  $R^2$  đo lường độ gần khít giữa đường hồi quy và các điểm dữ liệu Ct riêng lẻ của đường chuẩn. Khi  $R^2=1$  nghĩa là trùng khít hoàn toàn giữa đường hồi quy và các điểm dữ liệu. Thông thường  $R^2 > 0,99$  là được chấp nhận; (3) Các giá trị Ct của loạt mẫu chuẩn: Thông thường, giá trị Ct nằm trong khoảng chu kỳ [8-35] là được chấp nhận. Khi  $Ct < 8$  nghĩa là có quá nhiều khuôn mẫu trong phản ứng, ngược lại, nếu  $Ct > 35$  nghĩa là có quá ít khuôn mẫu trong phản ứng và độ lệch chuẩn đường như sẽ cao hoặc phản ứng có mặt ức.

#### 4.2.2. Nhận định kết quả

- Đối với ND 1:



+Mẫu âm tính khi giếng phản ứng không có đường tín hiệu huỳnh quang điển hình (nếu là phản ứng realtime PCR/RT-PCR) hoặc không có băng sản phẩm PCR trên gel (nếu chạy PCR/RT-PCR), tương đương vật liệu di truyền bị hủy hoại bởi chế phẩm.

+Mẫu dương tính: Mẫu có băng sản phẩm PCR trên gel (đối với PCR/RT-PCR) hoặc đường tín hiệu huỳnh quang điển hình, giá trị Ct nằm trong khoảng  $\pm 2SD$  của giá trị yêu cầu đối với mẫu chuẩn (đối với realtime PCR/RT-PCR). Trong phản ứng realtime PCR/RT-PCR, cần kiểm tra mẫu có kết quả nằm trong khoảng tuyến tính (đường chuẩn). Nếu kết quả của mẫu xét nghiệm nằm ngoài khoảng này, ví dụ mẫu có quá nhiều khuôn mẫu ( $Ct < 8$ ) thì cần pha loãng mẫu để đưa khuôn mẫu về khoảng tuyến tính và chạy lại phản ứng cho những mẫu này.

- Đối với ND 2: Dựa vào đường chuẩn, tính lượng DNA/RNA có mặt trong loạt mẫu pha loãng, so sánh với loạt pha loãng của mẫu gốc, tính lượng DNA/RNA bị hủy hoại bởi chế phẩm.

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập dữ liệu vào biểu mẫu và nhập phần mềm excel để quản lý.
  - Trả kết quả xét nghiệm theo quy trình trả kết quả của đơn vị.
  - Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả xét nghiệm chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
  - Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả xét nghiệm.
  - Trả kết quả xét nghiệm cho đúng đối tượng yêu cầu xét nghiệm hoặc cơ quan/người có thẩm quyền.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Biểu mẫu chuẩn bị môi trường và pha dung dịch
2	Biểu mẫu đánh giá khả năng gây độc tế bào của chế phẩm
3	Biểu mẫu chuẩn độ xác định hiệu giá chủng vi rút
4	Biểu mẫu tách chiết ARN
5	Biểu mẫu thực hiện phản ứng PCR/RT-PCR và/hoặc realtime PCR/RT-PCR
6	Biểu mẫu nhận định và tổng hợp kết quả

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm.



## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

Một số yếu tố ảnh hưởng bao gồm:

- Chất lượng mẫu: Mẫu có điều kiện bảo quản không bảo đảm
- Bộ chứng chuẩn không bảo đảm
- Sinh phẩm và hóa chất quá hạn sử dụng hoặc điều kiện bảo quản không bảo đảm.
- Vật tư tiêu hao quá hạn sử dụng.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Phản ứng bị nhiễm chéo
- Chế phẩm phải có tính phá hủy vật liệu di truyền hoàn toàn, không chỉ có tác dụng gây đứt gãy từng đoạn DNA/RNA, tránh hiện tượng những đoạn DNA/RNA tuy bị đứt gãy nhưng vẫn đảm bảo đoạn khuôn nguyên vẹn của phản ứng khuếch đại.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Yếu tố ảnh hưởng đối với nhận định, phiên giải kết quả ví dụ thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các mẫu.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm

- Chứng âm: bố trí trong mỗi loạt thử nghiệm, là mẫu không có vi rút hay chế phẩm
- Chứng dương: bố trí trong mỗi loạt thử nghiệm, là mẫu chứa chủng vi rút có nồng độ/hiệu giá sử dụng trong phản ứng tiếp xúc với chế phẩm.
- Chứng chế phẩm: bố trí trong mỗi loạt thử nghiệm, là mẫu chế phẩm.
- Bộ mẫu chuẩn: bố trí trong mỗi loạt thử nghiệm định lượng, là loạt pha loãng bậc 10 mẫu RNA tách chiết từ chủng vi rút gốc đã biết trước nồng độ/hiệu giá.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Không áp dụng

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- <https://www.astm.org/e1052-96.html>
- <https://webstore.ansi.org/standards/astm/astme183802>
- Larson EL, Cohen B, Baxter KA. Analysis of alcohol-based hand sanitizer delivery systems: efficacy of foam, gel, and wipes against influenza A (H1N1) virus on hands. *Am J Infect Control*. 2012 Nov;40(9):806-9. doi: 10.1016/j.ajic.2011.10.016.
- Macinga DR, Sattar SA, Jaykus LA, Arbogast JW. Improved inactivation of nonenveloped enteric viruses and their surrogates by a novel alcohol-based hand sanitizer. *Appl Environ Microbiol*. 2008 Aug;74(16):5047-52. doi: 10.1128/AEM.00487-08.
- Polio laboratory manual, 4th edition, 2004.

- Sattar SA, Ansari SA. The fingerpad protocol to assess hygienic hand antiseptics against viruses. *J Virol Methods*. 2002 May 16;103(2):171-81. doi: 10.1016/s0166-0934(02)00025-3.

- Tarka P, Nitsch-Osuch A. Evaluating the Virucidal Activity of Disinfectants According to European Union Standards. *Viruses*. 2021 Mar 24;13(4):534. doi: 10.3390/v13040534.

- Tuladhar E, Hazeleger WC, Koopmans M, Zwietering MH, Duizer E, Beumer RR. Reducing viral contamination from finger pads: handwashing is more effective than alcohol-based hand disinfectants. *J Hosp Infect*. 2015 Jul;90(3):226-34. doi: 10.1016/j.jhin.2015.02.019.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 256:**  
**ĐỊNH LƯỢNG/ĐÁNH GIÁ ADN TẾ BÀO TỒN DƯ**  
**TRÊN CÁC CHẾ PHẨM SINH HỌC BẰNG KỸ THUẬT REAL-TIME qPCR**

## 1. ĐẠI CƯƠNG

### 1.1. Mục đích

Quy trình “Định lượng/Đánh giá ADN tế bào tồn dư trên các chế phẩm sinh học bằng kỹ thuật real-time qPCR” được thực hiện nhằm định lượng và đánh giá ADN của dòng các tế bào động vật hoặc vi khuẩn (ví dụ tế bào Vero, MDCK, Sf9, E.coli...) còn tồn dư trên các chế phẩm sinh học (ví dụ vaccine bán thành phẩm và thành phẩm) trong mẫu xét nghiệm một cách an toàn, đáng tin cậy và kịp thời.

### 1.2. Định nghĩa

#### 1.2.1. Giải thích từ ngữ

*Nước sinh học phân tử*: là loại nước cất kèm sinh phẩm hoặc thương mại, vô trùng và không có nuclease và hỗn dịch phản ứng.

#### 1.2.2. Từ viết tắt

AND : Axit deoxyribonucleic

ARN : Axit ribonucleic

PTN : Phòng thí nghiệm

ATSH : An toàn sinh học

QLCL : Quản lý chất lượng

VSDTTU : Vệ sinh dịch tễ Trung ương

realtime qPCR: Phản ứng chuỗi polymerase thời gian thực, định lượng

ERC : Chứng dương tách chiết

NTC : Chứng âm phản ứng

SC : Standard curve (Mẫu chứng để dựng đường chuẩn)

SD : Serial dilution (Loạt mẫu pha loãng)

TE : Đệm Tris-EDTA

(+) : Dương tính

(-) : Âm tính

### 1.3. Nguyên lý

Real-time PCR TaqMan là một phương pháp in vitro để tổng hợp và định lượng tương đối/tuyệt đối (nếu có gam chuẩn ngoài) một trình tự xác định ADN. Mẫu cần đánh giá sẽ được tách chiết ADN theo quy trình hướng dẫn của bộ sinh phẩm. Mẫu ADN tách chiết sau đó sẽ được thực hiện định lượng bằng phương pháp realtime qPCR, sử dụng sinh phẩm thiết kế đặc hiệu trong việc phát hiện và định lượng ADN của tế bào và bộ



mẫu chuẩn có độ pha loãng bậc 10, tương ứng với lượng ADN từ từ 3 ng đến 30 fg mỗi phản ứng.

Trong quy trình này, chúng tôi trình bày chi tiết quy trình định lượng ADN tế bào Vero tồn dư, sử dụng bộ sinh phẩm tách chiết PrepSEQ® Residual DNA Sample Preparation Kit và sinh phẩm resDNASEQ™ DNA Kit for Vero như một ví dụ cụ thể.

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu, chuẩn bị mẫu, chuẩn bị máy, thực hiện xét nghiệm: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình được giao.

- Nhập, phân tích, quản lý dữ liệu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y, máy tính và công nghệ thông tin hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### 2.2. Vật tư

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

##### a. Dụng cụ xét nghiệm:

- Sinh phẩm tách chiết DNA
- Sinh phẩm định lượng realtime PCR
- Các sinh phẩm/hóa chất không đi kèm bộ sinh phẩm:
  - + Ethanol, 95%
  - + Isopropanol, 100%
  - + 5 M NaCl
  - + PBS, 1X
  - + Hydrochloric acid (HCl)
  - + 1 N NaOH
- Nước sinh học phân tử
- Bảo quản sinh phẩm và hóa chất theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Mẫu chế phẩm

##### b. Mẫu chứng, mẫu chuẩn

- Chứng dương tách chiết (ERC): mẫu tách chiết bao gồm 100 µL PBS (chứng âm) + 16,7 µL nồng độ pha loãng bậc 2 hoặc 3 hoặc 4 của ADN đường chuẩn (SD2, SD3 hoặc SD4) tùy thuộc vào ước lượng lượng ADN của mẫu đánh giá.

- Chứng âm (No Template Control - NTC): sử dụng dung dịch đệm pha loãng ADN (DNA dilution buffer).

- Chứng âm tách chiết (Negative Extraction Control – NEG): sử dụng PBS và được tách chiết cùng với mẫu bệnh phẩm.

- Chứng định đường chuẩn (Standard curve\_SC): mẫu chứng này không cần tách chiết.

- Các mẫu chứng được cung cấp trong bộ sinh phẩm

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Đầu côn có lọc, tiệt trùng và không có nuclease các thể tích: 10  $\mu$ L, 30  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L.

- Pipet nhựa tiệt trùng 5 mL, 10 mL

- Tấm phản ứng real-time và nắp đậy tương ứng với thiết bị (loại 0,1 mL hoặc 0,2 mL hoặc 0,5 mL có nắp tương ứng hoặc dài/giống 8 giếng có nắp tương ứng hoặc tấm nhựa 3 giếng x 8 giếng có nắp tương ứng hoặc tấm nhựa 96 giếng có nắp tương ứng hoặc ống thủy tinh...).

- Tuýp ly tâm thể tích 1,5 mL, 2,0 mL, nắp bật

- Tuýp vô trùng nắp xoáy 2,0 mL

- Tuýp 50 mL, tiệt trùng

- Hộp lưu mẫu 80-100 vị trí

- Máng đựng hóa chất tiệt trùng

- Trang phục bảo hộ

- Găng tay không bột các kích cỡ.

- Giấy thấm

- Khẩu trang y tế

- Khay lạnh

- Giá để tuýp

- Micropipet các cỡ <10  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L...>.

- Trọ pipet

- Trang bị bảo hộ cá nhân

- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN

- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Máy real-time PCR.

- Máy PCR.

- Máy ly tâm.

- Tủ an toàn sinh học.
- Tủ thao tác PCR.
- Máy lắc.
- Máy spindow
- Tủ lạnh.
- Tủ lạnh âm.
- Tủ lạnh âm sâu
- Máy ủ nhiệt khô
- Giá từ

## **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm**

### **2.4.1. Chuẩn bị bệnh nhân**

Không áp dụng

### **2.4.2. Thu thập và xử lý mẫu ban đầu**

- Theo yêu cầu của khách hàng.
- Ví dụ mẫu vaccine bán thành phẩm và thành phẩm.

## **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

- Xem biểu mẫu Phiếu yêu cầu xét nghiệm.

## **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

3 ngày.

## **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Thực hiện tại phòng sinh học phân tử.

## **3. AN TOÀN**

Không áp dụng.

## **4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **4.1. Các bước thực hiện**

#### **4.1.1. Thực hiện kỹ thuật**

##### *a. Chuẩn bị mẫu*

- Kiểm tra và tiếp nhận mẫu theo Quy trình tiếp nhận yêu cầu xét nghiệm và Sổ tay dịch vụ khách hàng của đơn vị.

- Lập danh sách và nhập dữ liệu/thông tin các mẫu trước khi xét nghiệm hoặc phần mềm excel để quản lý.

- Xử lý mẫu ban đầu sẽ thực hiện theo yêu cầu cụ thể của khách hàng đối với từng chế phẩm.



## b. Chuẩn bị hóa chất và sinh phẩm

Các bước thực hiện	Ghi chú															
1. Chuẩn bị các hạt từ - Cài máy ủ nhiệt ở 37 °C. - Ủ dung dịch hạt từ ở 37 °C trong 10 phút,	Vortex nhẹ nhàng trong lúc ủ cho đến khi dung dịch đồng nhất															
2. Chuẩn bị PrepSEQ Binding Solution - Thêm 30mL 100% isopropanol vào chai Binding - Đánh dấu đã thêm isopropanol, giữ ở nhiệt độ phòng																
3. Chuẩn bị đệm rửa (Wash Buffer) - Thêm 74 mL 95% ethanol vào chai PrepSEQ Wash Solution Concentrate, trộn đều - Đánh dấu vào chai đã thêm ethanol, giữ ở nhiệt độ phòng																
4. Chuẩn bị hỗn hợp Proteinase K/ Proteinase K Buffer cho tổng số mẫu phản ứng. (chuẩn bị 70µL fresh mix (10 µL Proteinase K + 60 µL Protein K buffer cho mỗi 100µ mẫu)	Tính dư 10% cho thao tác bằng pipet															
5. Chuẩn bị Lysis Solutuion Mix của Lysis Buffer, tRNA và glycogen - Chuẩn bị 360 µL hỗn hợp cho mỗi 100µL phản ứng	Chuẩn bị hỗn hợp ngay trước khi làm phản ứng hoặc trong khi ủ Proteinase K															
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Sinh phẩm</th> <th>Thể tích (µL) cho 20 phản ứng</th> <th>Thể tích cần pha</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Glycogen(5mg/mL)</td> <td>180</td> <td></td> </tr> <tr> <td>tRNA (10 mg/mL)</td> <td>4</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Lysis buffer</td> <td>7600</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td>7784</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Sinh phẩm	Thể tích (µL) cho 20 phản ứng	Thể tích cần pha	Glycogen(5mg/mL)	180		tRNA (10 mg/mL)	4		Lysis buffer	7600		Total	7784		
Sinh phẩm	Thể tích (µL) cho 20 phản ứng	Thể tích cần pha														
Glycogen(5mg/mL)	180															
tRNA (10 mg/mL)	4															
Lysis buffer	7600															
Total	7784															

## c. Chuẩn bị mẫu (ché phẩm)

- Pha loãng mẫu từ 1:100 đến 1:10000 trước khi làm phản ứng (nếu cần). Pha loãng mẫu bằng PBS (-), không dùng nước hoặc TE. Nếu tiến hành pha loãng mẫu, dùng dung dịch pha loãng làm chứng âm thay cho nước

- Để đảm bảo kết quả định lượng chính xác, mỗi mẫu cần tách tăng lên 3 lần/lần tách (triplicate). Chuẩn bị mẫu: (µL mẫu + µL PSB)>>> 100 µL Tuýp x 3 Tuýp

- Chuẩn bị chứng âm tách chiết: chuẩn bị 3 Tuýp chứng âm tách chiết. Thêm 100 µL PBS vào mỗi Tuýp.

*Handwritten signatures*

- Chuẩn bị Extraction/recovery controls (ERC): thêm 16,7  $\mu\text{L}$  SD2, SD3 hoặc SD4 vào 100  $\mu\text{L}$  mỗi mẫu phản ứng.

*d. Thực hiện tách chiết DNA*

- Đặt block ở nhiệt độ 56 °C

- Sử dụng giấy đo pH để kiểm tra pH mẫu. Lưu ý: Nếu cần, điều chỉnh độ pH của mẫu 6-8 bằng 10N NaOH hoặc 10N HCl trước khi làm phản ứng

- Chuẩn bị Tuýp 2 mL, thêm vào mỗi Tuýp 100-200  $\mu\text{L}$  mẫu.

- Thêm 10  $\mu\text{L}$  5M NaCl vào mỗi Tuýp

- Thêm 70  $\mu\text{L}$  hỗn dịch Proteinase K buffer/Protein K vào mỗi Tuýp. Trộn đều dung dịch và ly tâm. Ủ nhiệt độ 56 °C trong 30 phút. Chỉnh block ủ nhiệt lên 70 °C cho bước elution

- Lưu ý: Đối với các mẫu có nồng độ protein cao, kéo dài quá trình PK đến 60 phút, có thể tăng thu hồi.

- Giữ mẫu ở nhiệt độ phòng.

- Thêm 360  $\mu\text{L}$  Lysis Solution Mix vào Tuýp (hỗn hợp Lysis Solution đã chuẩn bị ở bước trên)

- Trộn đều Magnetic Particles cho đến khi đồng nhất. Thêm 30  $\mu\text{L}$  Magnetic Particle vào Tuýp

- Thêm 400  $\mu\text{L}$  Binding Solution vào Tuýp, đóng nắp ngay lập tức, đảo ngược ống 2 lần, sau đó trộn đều bằng máy vortex trong 5 phút.

- Ly tâm nhanh trong 15s ở tốc độ tối đa, sau đó đặt các Tuýp vào giá từ trong 5 phút hoặc cho đến khi dung dịch trong suốt. Bỏ phần dịch nổi bằng pipet, không chạm đến hạt từ.

- Chuyển Tuýp khỏi giá từ, thêm 300  $\mu\text{L}$  Wash Solution vào Tuýp. Vortex Tuýp trong 5s ở nhiệt độ phòng.

- Ly tâm Tuýp ở tốc độ tối đa trong 15s, sau đó đặt Tuýp trên giá từ trong vòng 1 phút. Loại bỏ dịch nổi bằng pipet mà không chạm đến hạt từ

- Rửa lần 2: Chuyển Tuýp khỏi giá từ, thêm 300  $\mu\text{L}$  Wash Solution vào Tuýp. Vortex Tuýp trong 5s ở nhiệt độ phòng.

- Ly tâm Tuýp ở tốc độ tối đa trong 15s, sau đó đặt Tuýp trên giá từ trong vòng 1 phút

- Bắt đầu hẹn giờ 5 phút. Loại bỏ dịch nổi bằng pipet. Sử dụng đầu côn 200  $\mu\text{L}$  để lấy dung dịch còn lại ra khỏi đáy Tuýp

- Mở nắp Tuýp, làm khô hạt từ, không quá 5 phút ở nhiệt độ phòng
- Thêm (50-100)  $\mu\text{L}$  Elution Buffer vào mỗi Tuýp. Vortex Tuýp trong 10 s ở tốc độ tối đa, ủ Tuýp ở nhiệt độ 70 °C trong vòng 7 phút. Vortex Tuýp 2-3 lần trong quá trình ủ.
- Ly tâm tốc độ tối đa trong 15s, đặt Tuýp lên giá từ trong vòng 2 phút. Hút dịch nổi (eluted ADN) sang Tuýp 1,5mL mới
- Ly tâm Tuýp ở tốc độ tối đa trong 3 phút, đặt Tuýp lên giá từ trong vòng 1 phút.
- Hút dịch nổi (eluted ADN) sang Tuýp 1,5 mL mới.
- Lưu giữ mẫu ở nhiệt độ -20 °C

*e. Thực hiện phản ứng realtime qPCR*

- Chuẩn bị master mix:

+Xác định số lượng mẫu chứng và mẫu thử

+N=N1+N2

+N1: Số lượng mẫu chứng (SC1-6, NTC \* 3 nồng độ = 21 mẫu)

+N2: Số lượng mẫu thử

+Làm tan hoàn toàn tất cả sinh phẩm ở nhiệt độ phòng, trộn đều và ly tâm nhanh

+Chuẩn bị hỗn hợp phản ứng PCR theo thể tích như bảng sau: tính sai số 10%

Thành phần sinh phẩm	Thể tích/phản ứng (30- $\mu\text{L}$ )
Chứng âm (Nước)	2 $\mu\text{L}$
10X primer/probe mix	3 $\mu\text{L}$
2X Environmental Master Trộn đều	15 $\mu\text{L}$
ADN template	10 $\mu\text{L}$
Tổng	30 $\mu\text{L}$

- Chuẩn bị pha loãng ADN chứng dựng đường chuẩn

+Dán 7 Tuýp microfuge 1,5 mL: NTC, SD1, SD2, SD3, SD4, SD5 và SD6.

+Thêm 33  $\mu\text{L}$  dung dịch đệm pha loãng ADN (DDB) vào ống NTC.

+Thêm 990  $\mu\text{L}$  DDB vào ống SD1.

+Thêm 450  $\mu\text{L}$  DDB vào các ống SD2, SD3, SD4, SD5 và SD6.

+Làm tan Tuýp ADN chứng (30 ng /  $\mu\text{L}$ ), vortex 2s, ly tâm nhanh



+Thực hiện các bước pha loãng, sau mỗi bước vortex và ly tâm nhanh.

+Bảo quản các Tuýp pha loãng ADN ở (2-8) °C dùng trong ngày. Nếu không bảo quản tại -20°C và sử dụng trong vòng 1 tuần.

Loại pha loãng	Pha loãng	pg ADN/phản ứng
Chứng	Tuýp ADN chứng	300,000 pg
SD 1	10 µL ADN control + 990 µL DDB	3000 pg
SD 2	50 µL SD1 + 450 µL DDB	300 pg
SD 3	50 µL SD1 + 450 µL DDB	30 pg
SD 4	50 µL SD1 + 450 µL DDB	3 pg
SD 5	50 µL SD1 + 450 µL DDB	0,3 pg
SD 6	50 µL SD1 + 450 µL DDB	0.03 g

- Chuẩn bị đường chuẩn

+Chuẩn bị 6 Tuýp SC1-SC6,

+Thêm 66 µL hỗn hợp phản ứng PCR vào mỗi Tuýp

+Thêm 33 µL từ mỗi ống SD tương ứng

+Vortex và ly tâm nhanh. Chia 30 µL/giếng phản ứng x 3 giếng (Bắt đầu từ nồng độ thấp nhất cho đến cao nhất)

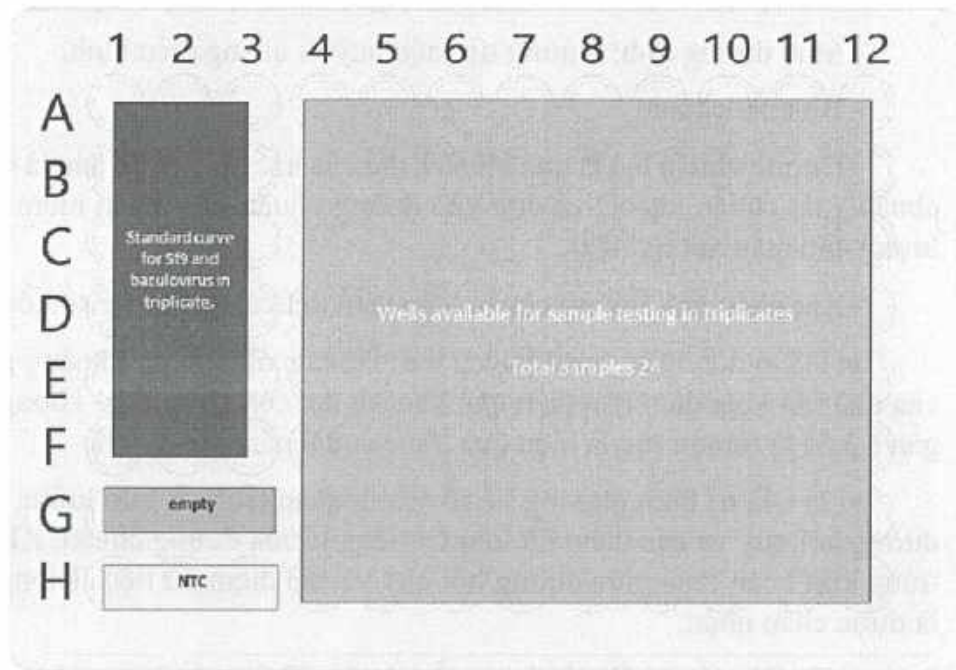
Tuýp mẫu đựng đường chuẩn (SC)	Thể tích hỗn hợp phản ứng PCR	Thể tích/(SD) Tuýp	Lượng ADN trong Tuýp phản ứng
SC 1	66 µL	(SD 1) 33 µL	3000 pg
SC 2	66 µL	(SD 2) 33 µL	300 pg
SC 3	66 µL	(SD 3) 33 µL	30 pg
SC 4	66 µL	(SD 4) 33 µL	3 pg
SC 5	66 µL	(SD 5) 33 µL	0,3 pg
SC 6	66 µL	(SD 6) 33 µL	0.03 pg
NTC	66 µL	33 µL DDB (ADN Dilution Buffer)	0.0pg

- Chuẩn bị phản ứng

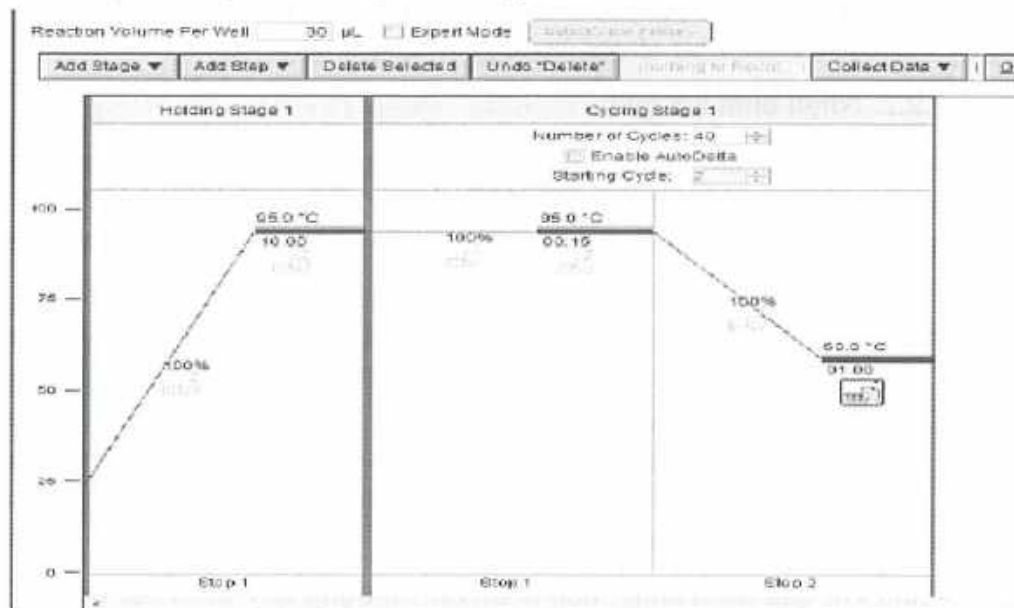
+Sơ đồ phản ứng PCR 96 giếng như sau:

- +Thêm 20  $\mu\text{L}$  PCR Master Mix trộn vào từng giếng mẫu.
- +Thêm 10  $\mu\text{L}$  mỗi mẫu ADN đã tách chiết vào các giếng thích hợp.
- +Dán nắp, vortex đều và ly tâm nhanh

**Scheme:**                      **Name of running file:**



- Cài đặt thiết bị và chương trình chạy



- Chạy chương trình

#### 4.1.2. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm
- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.

*Handwritten signatures in blue ink.*

- Mẫu sau xét nghiệm sẽ được lưu giữ tại PTN trong vòng ít nhất 6 tháng.
- Với những mẫu xét nghiệm không cần lưu, tiến hành hủy mẫu theo quy định.

#### 4.2. Nhận định kết quả

##### 4.2.1. Xác định hiệu lực của lần xét nghiệm

- Chứng âm & Mẫu âm tính: Không có tín hiệu huỳnh quang.
- Mẫu dương tính: Đường tín hiệu huỳnh quang điển hình.
- Bộ mẫu chuẩn:

+Đường chuẩn là kết quả khuếch đại của các mẫu được gán là các mẫu chuẩn (mẫu chuẩn/gam chuẩn ngoài) và dựa vào đường chuẩn này, phần mềm của thiết bị sẽ định lượng cho mẫu xét nghiệm.

+Khi phân tích đường chuẩn, cần xem xét các giá trị hệ số hồi quy sau:

- (1) Độ dốc/Hiệu quả khuếch đại: Độ dốc nằm trong khoảng giá trị khuyến cáo của nhà sản xuất đảm bảo hiệu quả khuếch đại của phản ứng. Thông thường, độ dốc gần (-3,3) là tối ưu, tức là hiệu quả khuếch đại gần như 100%;

- (2) Giá trị bình phương hệ số tương quan (R<sup>2</sup>): R<sup>2</sup> đo lường độ gần khớp giữa đường hồi quy và các điểm dữ liệu Ct riêng lẻ của đường chuẩn. Khi R<sup>2</sup>=1 nghĩa là trùng khớp hoàn toàn giữa đường hồi quy và các điểm dữ liệu. Thông thường R<sup>2</sup> >0,99 là được chấp nhận;

- (3) Các giá trị Ct của loạt mẫu chuẩn: Thông thường, giá trị Ct nằm trong khoảng chu kỳ [8-35] là được chấp nhận. Khi Ct<8 nghĩa là có quá nhiều khuôn mẫu trong phản ứng, ngược lại, nếu Ct>35 nghĩa là có quá ít khuôn mẫu trong phản ứng và độ lệch chuẩn đường như sẽ cao hoặc phản ứng có mặt ức.

##### 4.2.2. Nhận định kết quả

+Mẫu âm tính khi giết phần ứng không có đường tín hiệu huỳnh quang điển hình (nếu là phản ứng realtime PCR/RT-PCR) hoặc không có băng sản phẩm PCR trên gel (nếu chạy PCR/RT-PCR), tương đương vật liệu di truyền bị hủy hoại bởi chế phẩm.

+Mẫu dương tính: Mẫu có băng sản phẩm PCR trên gel (đối với PCR/RT-PCR) hoặc đường tín hiệu huỳnh quang điển hình, giá trị Ct nằm trong khoảng  $\pm 2SD$  của giá trị yêu cầu đối với mẫu chuẩn (đối với realtime PCR/RT-PCR). Trong phản ứng realtime PCR/RT-PCR, cần kiểm tra mẫu có kết quả nằm trong khoảng tuyến tính (đường chuẩn). Nếu kết quả của mẫu xét nghiệm nằm ngoài khoảng này, ví dụ mẫu có quá nhiều khuôn mẫu (Ct<8) thì cần pha loãng mẫu để đưa khuôn mẫu về khoảng tuyến tính và chạy lại phản ứng cho những mẫu này.

- Sau khi quá trình chạy mẫu hoàn tất, sử dụng quy trình sau để phân tích kết quả. Dưới đây là một ví dụ về cách phân tích kết quả dựa trên phần mềm có sẵn của máy realtime PCR ABI 7500Fast

+Trên thanh toolbar, chọn Analysis, Analysis Settings.

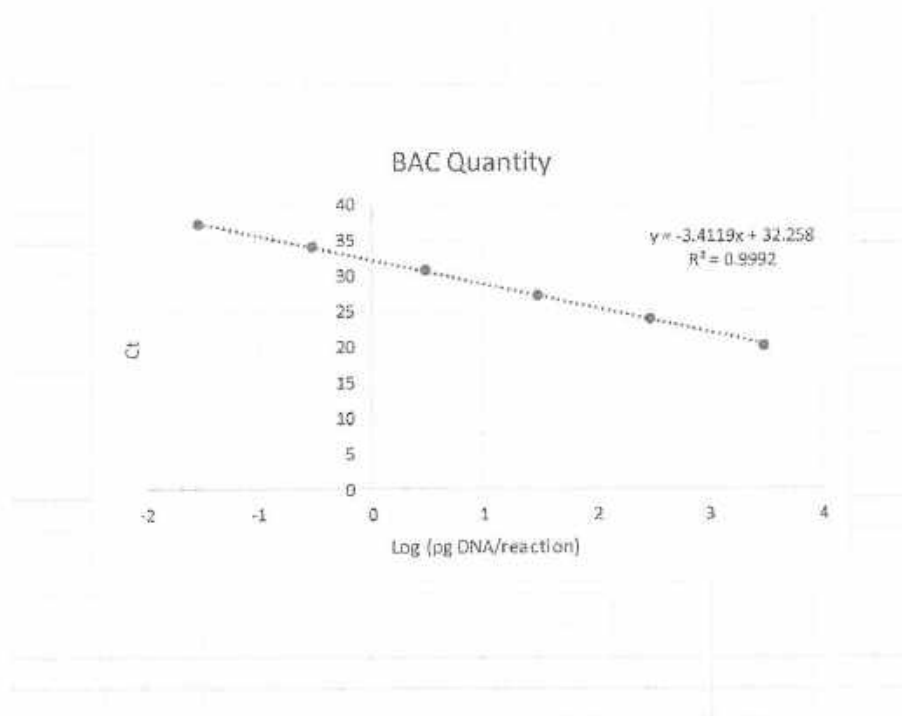
+Trong cửa sổ Analysis Settings, chọn các cài đặt như sau, sau đó bấm OK:

- Bỏ chọn Automatic Threshold.



- Trong phần Threshold field, chọn 0,2.
- Chọn Automatic Baseline hoặc Manual Baseline.
- Lưu ý: Bạn có thể phân tích các xét nghiệm bằng Automatic Baseline hoặc Manual Baseline., tùy theo kết quả nào trong đường cong tiêu chuẩn tốt nhất
- +Click (Analyze).
- +Chọn Analysis, QC Summary trong bảng điều khiển bên trái màn hình. Kiểm tra Flag.
- +Trong bảng điều khiển bên trái, chọn Analysis, Standard Curve. Xác minh các giá trị Slope, Intercept, R2, and Efficiency.
- +Trong phần Standard Curve screen, chọn (Save as .jpg image) để lưu đồ thị đường cong tiêu chuẩn
- +Chọn File, Export. Trong phần Export Data menu, chọn file type \*.xls. Chọn Start Export.
- +Chọn File, Print Report để tạo bản cứng của thí nghiệm, hoặc chọn Print Preview để kiểm tra và lưu báo cáo dưới dạng \*.pdf hoặc \*.html file.
- Có thể sử dụng Excel để lập công thức dựa trên loạt mẫu chuẩn, từ đây tính toán lượng ADN tồn dư trong mẫu xét nghiệm như ví dụ dưới đây

Sample Name	Target Name	Ct	Cr Mean	Cr SD	pg DNA/reaction	log (pg DNA/reaction)	Ct
SD1	BAC	20.22125	20.15651	0.056075	0.03	-1.522878745	37.21960449
SD1	BAC	20.12472	20.15651	0.056075	0.3	-0.522878745	34.16070175
SD1	BAC	20.12355	20.15651	0.056075	3	0.477121255	30.73521996
SD2	BAC	23.82685	23.92091	0.082654	30	1.477121255	27.35283089
SD2	BAC	23.98196	23.92091	0.082654	300	2.477121255	23.92090607
SD2	BAC	23.95391	23.92091	0.082654	3000	3.477121255	20.15650749
SD3	BAC	27.47865	27.35283	0.119405			
SD3	BAC	27.33876	27.35283	0.119405			
SD3	BAC	27.24109	27.35283	0.119405			
SD4	BAC	30.72273	30.73522	0.034297	y=mx+b		
SD4	BAC	30.77401	30.73522	0.034297	m	Slope	-3.4119
SD4	BAC	30.70892	30.73522	0.034297	b	Intercept	32.258
SD5	BAC	33.99087	34.1607	0.23801		% Efficiency	96.37754466
SD5	BAC	34.43274	34.1607	0.23801			
SD5	BAC	34.05848	34.1607	0.23801			
SD6	BAC	37.62849	37.2196	0.356183			
SD6	BAC	37.05357	37.2196	0.356183			
SD6	BAC	36.97675	37.2196	0.356183			



- Hoàn thành bảng kết quả

- Nhập kết quả vào máy tính chương trình Excel theo định dạng mẫu và gửi tập tin kết quả cho quản lý kỹ thuật, sau đó QLKT sẽ đối chiếu kết quả và chuyển vào tập tin tổng hợp.

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập dữ liệu vào biểu mẫu và nhập phần mềm excel để quản lý.
- Trả kết quả xét nghiệm theo quy trình trả kết quả của đơn vị.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả xét nghiệm chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả xét nghiệm.
- Trả kết quả xét nghiệm cho đúng đối tượng yêu cầu xét nghiệm hoặc cơ quan/người có thẩm quyền.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Biểu mẫu chuẩn bị sinh phẩm và hóa chất
2	Biểu mẫu chuẩn bị mẫu
3	Biểu mẫu tách chiết ADN
4	Biểu mẫu thực hiện phản ứng

5	Biểu mẫu nhận định và tổng hợp kết quả
---	--

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm.

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

Một số yếu tố ảnh hưởng bao gồm:

- Chất lượng mẫu: Mẫu có điều kiện bảo quản không bảo đảm
- Bộ chứng chuẩn không bảo đảm
- Sinh phẩm và hóa chất quá hạn sử dụng hoặc điều kiện bảo quản không bảo đảm.
- Vật tư tiêu hao quá hạn sử dụng.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Phản ứng bị nhiễm chéo
- Mẫu có kết quả nằm ngoài khoảng tuyến tính (đường chuẩn)

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Yếu tố ảnh hưởng đối với nhận định, phiên giải kết quả ví dụ thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các mẫu.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Nội kiểm

- Chứng âm tách chiết: bố trí trong mỗi loạt thử nghiệm
- Chứng âm phản ứng: bố trí trong mỗi lần chạy phản ứng realtime qPCR
- Chứng dương tách chiết: bố trí trong mỗi loạt thử nghiệm.
- Chứng dựng đường chuẩn: bố trí trong mỗi lần chạy phản ứng realtime qPCR

#### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Không áp dụng

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- PrepSEQ® Residual DNA Sample Preparation Kit, Pub. No. 4469839
- resDNASEQ™ Quantitative CHO DNA Kit
- resDNASEQ™ Quantitative E. coli DNA Kit
- resDNASEQ™ Quantitative HEK293 DNA Kit
- resDNASEQ™ Quantitative Human DNA Kit
- resDNASEQ™ Quantitative MDCK DNA Kit
- resDNASEQ™ Quantitative NS0 DNA Kit



- resDNASEQ™ Quantitative Pichia DNA Kit
- resDNASEQ™ Quantitative Sf9 and Baculovirus DNA Kit
- resDNASEQ™ Quantitative Vero DNA Kit (Plasmid DNA quantitation)
- resDNASEQ™ Quantitative Plasmid DNA - Kanamycin Resistance Gene Kit
- Cao S, Dong G, Tang J, Li J, Liu J, Shi L, Li C, Wang J. Development of a Vero cell DNA reference standard for residual DNA measurement in China. *Hum Vaccin Immunother.* 2013, 9(2):413-9.
- Palacios JDCA, Barreto CAB, Lara JSM, Navas ÁML. Standardization of DNA Residual Quantification Method of Vero Cell Rabies Vaccine for Human Use. *Open Med Chem J.* 2017, 1:66-80.
- Vernay O, Sarcey E, Detrez V, Abachin E, Riou P, Mouterde B, Bonnevey T, Mallet L. Comparative analysis of the performance of residual host cell DNA assays for viral vaccines produced in Vero cells. *J Virol Methods.* 2019, 268:9-16.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 257:**  
**CUNG CẤP MẪU CHỨNG NỘI BỘ**  
**KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG CHO XÉT NGHIỆM VI RÚT**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình kỹ thuật sản xuất, sử dụng và theo dõi chứng nội bộ được thực hiện nhằm hướng dẫn sản xuất, sử dụng và theo dõi chứng nội bộ (chứng huyết thanh, chứng SHPT, chứng vi rút...) trong mẫu xét nghiệm một cách an toàn, đáng tin cậy và kịp thời.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Không áp dụng

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

PTN:	Phòng thí nghiệm
EQAP:	External Quality Assessment Programme: Chương trình đánh giá chất lượng bên ngoài.
SHPT:	sinh học phân tử.
ELISA:	kỹ thuật miễn dịch gắn enzyme.
IHC:	Inhouse quality control (mẫu nội kiểm/chứng dương nội bộ)
TCYTTG :	Tổ chức Y tế Thế giới
PTN/PXN:	Phòng thí nghiệm/Phòng xét nghiệm
ATSH :	An toàn sinh học

### **1.3. Nguyên lý**

Chứng nội bộ được chọn là các mẫu dương tính cao. Mẫu dương tính sẽ được kiểm tra ở những nồng độ pha loãng khác nhau để lựa chọn được nồng độ phù hợp làm chứng dương nội bộ. Thông thường, chứng dương nội bộ là mẫu dương tính nhưng có giá trị OD gần ngưỡng với kỹ thuật ELISA và có tương đương với chứng dương chuẩn của chương trình ngoại kiểm với kỹ thuật SHPT và chứng vi rút với quy trình phân lập/trung hòa... Nếu giá trị quá thấp kết quả sẽ lên xuống khỏi ngưỡng do biến thiên. Nếu quá cao sẽ giới hạn đối với kiểm soát các đường biên và sẽ không xác định được các thay đổi rất nhỏ.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu, chuẩn bị mẫu, chuẩn bị máy, thực hiện xét nghiệm: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành

Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình được giao.

- Nhập, phân tích, quản lý dữ liệu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, thú y, máy tính và công nghệ thông tin hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

## **2.2. Vật tư**

### **2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

#### *a. Dùng cho xét nghiệm:*

Tùy theo loại chứng huyết thanh học và SHPT mà sử dụng sinh phẩm hoá chất cho phù hợp

#### **ELISA:**

- Sinh phẩm ELISA phù hợp với tác nhân
- Nước cất sấy vô trùng

#### **Sinh học phân tử**

- Sinh phẩm tách chiết ARN
- Sinh phẩm khuếch đại RT-PCR hoặc realtime RT-PCR
- Nước SHPT
- Mồi (primer): Mồi xuôi và mồi ngược
- Đầu dò (probe) tương ứng với tác nhân
- Cồn tuyệt đối
- Thạch điện di (RT-PCR)
- Dung dịch điện di (RT-PCR)
- Thuốc nhuộm thạch (RT-PCR)
- Thang chuẩn (RT-PCR)
- Điều kiện bảo quản vật tư: theo hướng dẫn tại quy trình của nhà sản xuất.

#### **Phân lập vi rút**

- Môi trường giàu dinh dưỡng
- Huyết thanh bào thai bê (FBS)
- Kháng sinh: Gentamicin hoặc Pennicinin/Streptomycin
- Chống nấm
- HEPES
- NaHCO<sub>3</sub>



- Trypsin
- PBS (-) pH 7,2
- Nước cất sấy vô trùng
- Chai tế bào kín 1 lớp
- Sinh phẩm tách chiết ARN
- Sinh phẩm khuếch đại realtime RT-PCR
- Nước SHPT
- Mồi (primer): Mồi xuôi, mồi ngược
- Đầu dò (Probe)
- Cồn tuyệt đối
- Bảo quản vật tư: theo hướng dẫn của nhà sản xuất

*b. Mẫu chứng, mẫu chuẩn*

**ELISA:**

- Chứng nội kiểm

**Sinh học phân tử**

- Chứng âm tách chiết
- Chứng dương tách chiết
- Chứng dương phản ứng
- Chứng âm phản ứng

**Phân lập vi rút:**

- Chứng vi rút
- Chứng âm tế bào
- Chứng dương phản ứng
- Chứng âm phản ứng

**2.2.2. Vật tư tiêu hao**

**ELISA**

- Tuýp ly tâm 1,5 -2,0 mL nắp bật
- Đầu côn không lọc các loại
- Pipet nhựa các loại
- Khẩu trang y tế
- Găng tay không bột các kích cỡ
- Tuýp ly tâm 15 mL
- Micropipet các cỡ
- Trọ pipet

*Handwritten signatures*

- Ống đong 1000ml
- Hộp lưu mẫu 80-100 vị trí
- Giấy thấm
- Giá để tuýp
- khay lạnh
- Máng nhựa đựng dung dịch
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

#### **Sinh học phân tử**

- Tuýp ly tâm các thể tích 1,5-2,0 mL nắp bật
- Tuýp ly tâm 2 mL nắp xoáy
- Đầu côn (tip) có lọc các loại, tiệt trùng
- Ống phản ứng realtime PCR hoặc PCR/strip 8 giếng/tám nhựa 96 giếng và nắp đậy tương ứng với thiết bị (0,1 - 0,5 mL)

- Giá để tuýp
- khay lạnh
- Hộp lưu mẫu 80-100 vị trí
- Khẩu trang y tế
- Giấy thấm
- Găng tay không bột các kích cỡ
- Pipet nhựa các loại, tiệt trùng
- Micropipet các cỡ
- Trụ pipet
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

#### **Nuôi cấy vi rút**

- Đầu côn (tip) có lọc các cỡ, tiệt trùng
- Pipet nhựa các loại, tiệt trùng
- Tuýp ly tâm 15 mL
- Tuýp ly tâm các cỡ 1,5 -2,0 mL nắp bật
- Tuýp ly tâm 2,0 mL nắp xoáy

- Ống phản ứng realtime PCR/strip 8 giếng/tấm nhựa 96 giếng và nắp đậy tương ứng với thiết bị (0,1 -0,5 mL)

- Giá để tuýp
- Hộp lưu mẫu 80-100 vị trí
- Găng tay không bột các kích cỡ
- Giấy thấm
- Khẩu trang y tế
- Lọc bình/lọc xi lanh 0,22  $\mu\text{M}$ /0,45  $\mu\text{M}$
- Chai 25cm<sup>2</sup> /tuýp đáy phẳng nuôi cấy tế bào
- khay lạnh
- Trọ pipet
- Micropipet các cỡ
- Chai/cốc thủy tinh các cỡ
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

#### ELISA

- Máy lắc
- Lò sấy khô/nồi hấp tiệt trùng
- Máy ly tâm thường/máy ly tâm lạnh
- Tủ an toàn sinh học
- Tủ lạnh thường/tủ lạnh âm
- Máy đọc phiên ELISA
- Máy rửa phiên ELISA
- Máy ủ phiên ELISA
- Bể ủ nhiệt
- Hệ thống các thiết bị văn phòng: máy tính, máy in, điều hoà, máy barcode, phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm...

#### Sinh học phân tử

- Máy PCR/máy realtime PCR
- Máy ly tâm
- Máy ly tâm spindown



- Tủ an toàn sinh học
- Tủ PCR
- Máy lắc
- Tủ lạnh dương/tủ lạnh âm/tủ âm sâu
- Máy điện di
- Máy chụp ảnh điện di
- Hệ thống các thiết bị văn phòng: máy tính, máy in, điều hoà, máy barcode (nếu có), phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm (nếu có) ...

#### **Nuôi cấy vi rút**

- Tủ an toàn sinh học
- Kính hiển vi quang học
- Tủ ẩm (có và không có CO<sub>2</sub>)
- Tủ lạnh dương/tủ lạnh âm/tủ âm sâu
- Máy ly tâm
- Máy spindown
- Tủ an toàn sinh học
- Máy realtime PCR
- Tủ PCR
- Máy lắc
- Hệ thống các thiết bị văn phòng: máy tính, máy in, điều hoà, máy barcode (nếu có), phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm (nếu có) ...
- Bảo quản và sử dụng thiết bị theo hướng dẫn của nhà sản xuất

#### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm**

2.4.1. Chuẩn bị bệnh nhân: không áp dụng

2.4.2. Thu thập và xử lý mẫu ban đầu

- Loại mẫu xét nghiệm: mẫu dương tính với các tác nhân tương ứng: mẫu huyết thanh (ELISA) và mẫu dịch họng/chúng vi rút (SHPT)

#### **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

Không áp dụng

#### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

- Huyết thanh học: 07 ngày đã bao gồm các vị trí công việc
- Sinh học phân tử: 10 ngày đã bao gồm các vị trí công việc

#### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Tại phòng xét nghiệm.

### 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành ATSH cấp 2 theo mức độ nguy cơ của tác nhân tương ứng với kỹ thuật thực hiện theo quy định về an toàn sinh học phòng xét nghiệm.

### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 4.1. Các bước thực hiện

##### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

##### a. SHPT

##### Chủng vi rút phân lập

- Chủng vi rút được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm dương tính.
- Thông tin về quá trình phân lập chủng được lưu trong “Phiếu thông tin nguồn gốc mẫu bệnh phẩm”

- Tách chiết RNA: theo hướng dẫn của nhà sản xuất

- Kiểm tra bằng RT-PCR và Realtime RT-PCR: theo quy trình của nhà sản xuất. Thực hiện kỹ thuật RT-PCR và Realtime RT-PCR theo quy trình chẩn đoán vi rút bằng phương pháp SHPT và điền vào biểu mẫu kết quả xét nghiệm với mã số tương ứng với các quy trình.

- Điện di sản phẩm RT-PCR (nếu cần):

- + Điện di sản phẩm trên thạch agarrose

- + Điện di song song với chứng dương chuẩn của chương trình ngoại kiểm

- + Đối chiếu trọng lượng phân tử của chứng dương nội bộ và chứng dương chuẩn với bảng trọng lượng phân tử chuẩn

- Với sản phẩm PCR của kỹ thuật Realtime RT-PCR: Đối chiếu giá trị Ct của chứng dương nội bộ và chứng dương chuẩn với bảng giá trị Ct chuẩn.

- Pha loãng chứng nội bộ

- + Xác định độ pha loãng chứng phù hợp dựa trên 2 tiêu chí: Băng DNA có độ đậm tương đương với chứng chuẩn, sắc nét, rõ ràng (đối với sản phẩm của RT-PCR); Giá trị Ct của chứng nội bộ gần nhất với giá trị Ct của chứng chuẩn.

- Chứng dương nội bộ được lưu ở nồng độ sử dụng

- + Từ kết quả trên các mẫu chứng sẽ được pha loãng đến nồng độ sử dụng.

- + Chia ra các Tuýp 100  $\mu$ L/tuýp, để lưu giữ ở -80  $^{\circ}$ C, trong 3 năm.

##### b. ELISA

- Mẫu huyết thanh được chọn từ các mẫu bệnh phẩm dương tính, nên chọn có giá trị OD cao.

- Thực hiện kiểm tra lại kết quả ELISA theo quy trình xét nghiệm tương ứng.

- Tiến hành pha loãng mẫu bằng dung dịch base matrix/chứng âm/mẫu âm tính.

- + Tính thể tích dung dịch mẫu để có thể sử dụng trong 1 năm + 20 mẫu để dựng đường chuẩn + 10%.



+ Chia ra các tuýp theo thể tích gấp đôi thể tích một lần xét nghiệm, để lưu giữ ở tủ lạnh âm như bảo quản mẫu bệnh phẩm, trong 2 năm.

- Xây dựng biểu đồ:

+Biểu theo dõi chứng nội bộ được xây dựng dựa trên kết quả mẫu chứng dương nội bộ do PTN xây dựng theo quy trình kỹ thuật xét nghiệm ELISA.

+Kiểm tra mẫu chứng nội bộ bằng bộ sinh phẩm đang sử dụng ít nhất là 20 lần, trong ít nhất 10 lần chạy khác (ví dụ: 2 tuýp/lần chạy x 10 lần chạy) ghi lại tỷ số mật độ quang học của mẫu nội kiểm bằng giá trị thực của OD mẫu/OD giá trị ngưỡng (hoặc OD của mẫu nội kiểm)

+ Tính giá trị trung bình (mean) và độ lệch chuẩn (SD.)

+ Vẽ đồ thị dựa trên số liệu thu được: Trục y là giá trị thực tế làm được.

+ Vẽ các đường song song với trục x ở các giá trị -3; -2; -1 và +3; +2; +1SD tương ứng từ giá trị thực được tính toán theo lý thuyết.

#### 4.1.2. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm

- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.

### 4.2. Nhận định kết quả

#### 4.2.1. Xác định hiệu lực của lần xét nghiệm

- Các chứng âm phải cho kết quả âm tính, các chứng dương phải cho kết quả dương tính. Nếu bất cứ chứng âm nào cho kết quả dương tính, hoặc chứng dương cho kết quả âm tính phải chạy lại thử nghiệm và không được đọc kết quả mẫu xét nghiệm.

#### 4.2.2. Nhận định kết quả

- Mẫu chứng nội bộ được sử dụng cùng với các mẫu bệnh phẩm trong tất cả các lần làm xét nghiệm.

- Khi lấy Tuýp chứng, phải ghi ngày lấy vào Biểu mẫu Phiếu sản xuất và theo dõi chứng nội bộ. Khi lấy Tuýp chứng để sử dụng cho kỹ thuật SHPT, chỉ cất lại vào tủ lạnh âm trong hộp có ghi chứng dương đang sử dụng.

- Nếu chứng nội bộ không đạt các yêu cầu đề ra trong lần làm xét nghiệm thì không được trả kết quả xét nghiệm mẫu bệnh phẩm làm cùng trong lần xét nghiệm đó và báo cáo sự không phù hợp. Chỉ trả kết quả xét nghiệm cho khách hàng khi mẫu chứng nội bộ đạt được các yêu cầu đề ra và có xác nhận của trưởng PTN.

- Nếu chứng nội bộ của kỹ thuật SHPT không đạt yêu cầu khi có biểu hiện không xuất hiện băng đặc hiệu hoặc dương tính yếu hơn so với các lần thực hiện trước đó. Sau khi báo cáo sự không phù hợp, thực hiện lặp lại xét nghiệm với cùng tuýp chứng nội bộ. Nếu chứng nội bộ vẫn không đạt yêu cầu, loại bỏ tuýp đang sử dụng và làm lặp lại xét nghiệm với chứng nội bộ mới.

- Nếu chứng nội bộ của kỹ thuật ELISA không đạt yêu cầu, sau khi báo cáo sự không phù hợp, làm lặp lại xét nghiệm với chứng nội bộ cùng lô. Nếu chứng nội bộ vẫn không đạt yêu cầu, xem xét lại tất cả các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm (sinh phẩm, trang thiết bị, con người, điều kiện môi trường, chứng nội bộ). Đồng thời, sau khi



kiểm tra các mẫu xét nghiệm thực hiện trong cùng một lần với các mẫu chứng nội bộ đó, nếu kết quả xét nghiệm có sự thay đổi, cần thông báo lại ngay cho khách hàng.

- Nếu chứng vi rút của sử dụng cho các kỹ thuật phân lập, nuôi cấy, trung hòa... không đạt yêu cầu thì phải làm lại xét nghiệm với cùng lô. Nếu chứng vi rút vẫn không đạt yêu cầu, xem xét lại tất cả các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm (sinh phẩm, trang thiết bị, con người, điều kiện môi trường, chứng nội bộ).

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả xét nghiệm vào biểu mẫu
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả xét nghiệm chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả xét nghiệm.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu thông tin nguồn gốc mẫu
2	Sản xuất và theo dõi chứng nội bộ

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

- Sinh phẩm, vật tư tiêu hao bị nhiễm.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tách chiết: Sinh phẩm tách chiết không bảo đảm, không tuân thủ các bước thực hiện của quy trình tách chiết ..., các thiết bị tách chiết không bảo đảm....

- Khuếch đại: sinh phẩm và khuôn mẫu không được bảo quản đúng cách, hiệu quả khuếch đại kém, nhiễm chéo giữa các mẫu, nhầm lẫn các mẫu hoặc không tuân thủ đúng các bước khuếch đại, thiết bị khuếch đại không bảo đảm...

- Sinh phẩm ELISA không bảo đảm, không được kiểm tra chất lượng trước khi làm xét nghiệm.

- Không tuân thủ các bước thực hiện của quy trình ELISA.

- Các trang thiết bị không được bảo dưỡng và hiệu chuẩn định kỳ, sử dụng sai trang thiết bị.

- Sử dụng sai bước sóng đọc kết quả.

### **5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Phiên giải kết quả: Vẫn thực hiện phiên giải khi các tiêu chí phản ứng không đạt yêu cầu, các bước thực hiện phiên giải kết quả không bảo đảm, không đúng, nhầm lẫn giữa các mẫu

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

### **6.1. Nội kiểm**

Mỗi lần thực hiện phản ứng SHPT phải sử dụng chứng âm tách chiết, chứng dương tách chiết, chứng âm phản ứng và chứng dương phản ứng.

Mỗi lần thực hiện phản ứng ELISA phải sử dụng chứng âm sinh phẩm, chứng âm sinh phẩm, chứng nội bộ.

### **6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng**

Không áp dụng

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- TCVN ISO 15189:2014 (ISO 15189:2012) Phòng thí nghiệm Y tế – Yêu cầu về chất lượng và năng lực, Tổng cục tiêu chuẩn đo lường chất lượng, 2014.

- ISO 15189:2012, Medical laboratories - Requirements for quality and competence, 2012.

- Manual for the Laboratory Diagnosis of Measles and rubella Virus Infection. World Health Organization, 2007 ([http://www.who.int/immunization\\_monitoring/LabManualFinal.pdf](http://www.who.int/immunization_monitoring/LabManualFinal.pdf)).

- Thông tư số 53/2017/TT-BYT quy định thời hạn bảo quản hồ sơ, tài liệu chuyên môn nghiệp vụ ngành y tế ban hành ngày 29/12/2017.

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm tách chiết ARN

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm realtime RT-PCR/RT-PCR

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm ELISA của các hãng sản xuất

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 258:**  
**CUNG CẤP CHƯƠNG TRÌNH NGOẠI KIỂM HUYẾT THANH HỌC**  
**CHẨN ĐOÁN SỞI**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này mô tả các hoạt động của quá trình điều phối, sản xuất mẫu ngoại kiểm huyết thanh học chẩn đoán sỏi.

### **1.2. Định nghĩa**

#### 1.2.1. Giải thích từ ngữ

- Chương trình ngoại kiểm: Chương trình ngoại kiểm tra do một đơn vị bên ngoài là tổ chức độc lập có vai trò trách nhiệm trong việc xây dựng và vận hành chương trình ngoại kiểm tra – so sánh liên phòng.

- Điều phối viên/Nhóm điều phối: Một hay nhiều cá nhân chịu trách nhiệm tổ chức và quản lý mọi hoạt động liên quan trong việc triển khai một chương trình ngoại kiểm.

#### 1.2.2. Từ viết tắt

EQA: External Quality Assurance (Chương trình đánh giá chất lượng từ bên ngoài - chương trình ngoại kiểm)

SOP: Standard Operating Procedure (Quy trình chuẩn)

QLCL: Quản lý chất lượng

QLKT: Quản lý kỹ thuật

HDSD: Hướng dẫn sử dụng

### **1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Các hoạt động cung cấp chương trình ngoại kiểm: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiết trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư**

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Sinh phẩm ELISA sỏi tương ứng
- Nước cất vô trùng
- Dung dịch bảo quản



- Mẫu huyết tương/huyết thanh
- + Mẫu âm
- + Mẫu dương
- Bảo quản sinh phẩm, hoá chất theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Tuýp ly tâm 1,5 -2,0 mL nắp xoáy
- Tuýp ly tâm 2 mL nắp bật
- Đầu côn không lọc các loại
- Pipet nhựa các loại, tiệt trùng
- Hộp đựng mẫu 90/100 vị trí
- Khẩu trang y tế
- Găng tay không bột các kích cỡ
- Giấy thấm
- khay lạnh
- Máng nhựa đựng dung dịch
- Ống đong 1000mL
- Giá để tuýp.
- Micropipet các cỡ
- Trọ pipet
- Đá gel
- Thùng xốp
- Túi nilon có khóa
- Nilon chống va đập
- Hộp đựng carton đóng gói
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Máy lắc
- Lò sấy khô/nồi hấp tiệt trùng
- Máy ly tâm thường/máy ly tâm lạnh
- Tủ an toàn sinh học
- Tủ lạnh thường/tủ lạnh âm

- Máy đọc phiên ELISA
- Máy rửa phiên ELISA
- Máy ủ phiên ELISA
- Hệ thống các thiết bị văn phòng: máy tính, máy in, điều hoà, máy barcode, phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm...

## **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm**

### 2.4.1. Chuẩn bị bệnh nhân:

Không áp dụng

### 2.4.2. Thu thập và xử lý mẫu ban đầu

- Loại mẫu xét nghiệm: mẫu huyết thanh.
- Liệt kê dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, các bước thu thập, bảo quản, vận chuyển mẫu hoặc viện dẫn đến quy trình lấy mẫu tương ứng.
- Tiêu chí chấp nhận mẫu: mẫu còn đủ thể tích từ 500ul trở lên.

## **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

Không áp dụng

## **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Tổng số ngày thực hiện 7 ngày (đã bao gồm các vị trí việc làm)

## **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Phòng xét nghiệm.

## **3. AN TOÀN**

Tuân thủ các nguyên tắc thực hành an toàn sinh học cấp 2.

## **4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **4.1. Các bước thực hiện**

#### 4.1.1. Lập kế hoạch

- Cán bộ có thẩm quyền sẽ thảo luận với các cán bộ tham gia thực hiện chương trình để thiết lập kế hoạch thực hiện trước khi lập kế hoạch.
- Kế hoạch năm được thiết lập đầu năm và được phê duyệt bởi người có thẩm quyền bao gồm:

- + Mục tiêu và loại mẫu sản xuất trong năm
- + Tiêu chí các đơn vị tham gia
- + Người chịu trách nhiệm
- + Tên và địa chỉ của người ký hợp đồng nếu có
- + Danh sách các đơn vị dự kiến tham gia
- + Số bộ mẫu cung cấp trong năm
- + Thời gian cho từng đợt cung cấp

- + Thẻ tích mẫu cần sử dụng
- + Các hướng dẫn và chi tiết thiết kế bộ mẫu
- Kế hoạch vòng ngoại kiểm: được xây dựng trước khi triển khai mỗi đợt cung cấp mẫu, bao gồm tối thiểu các nội dung:
  - + Thiết kế mẫu
  - + Khung thời gian cho quy trình
  - + Thời hạn của chương trình
  - + Thẻ tích và số lượng mẫu yêu cầu cho từng loại mẫu

#### 4.1.2. Đăng ký tham gia

- Thông báo chương trình và Biểu mẫu đăng ký tham gia sẽ được gửi đến các đơn vị.
- Thu thập đăng ký và cập nhật vào danh sách tham gia, gán mã riêng biệt cho từng đơn vị
- Kiểm tra lượng mẫu trong ngân hàng mẫu, nếu mẫu chưa có sẵn hoặc thiếu so với lượng cần thì cần có kế hoạch bổ sung mẫu (thu thập hoặc mua mẫu)
- Soạn hợp đồng và gửi hợp đồng đến các đơn vị đăng ký tham gia, thương thảo và hoàn thiện các hợp đồng ngoại kiểm.

#### 4.1.3. Chuẩn bị ngân hàng mẫu

- Dựa vào kết quả xét nghiệm phát hiện IgM sởi, lựa chọn các mẫu vào ngân hàng mẫu theo tiêu chí:
  - + Thẻ tích còn lại trong mỗi mẫu >0,5mL
  - + Mẫu không bị tan huyết, vón cục, lipid hóa, nhiễm khuẩn
  - Mẫu sau đó được phân vào các nhóm
  - + Mẫu âm tính với IgM sởi, dương tính với một số tác nhân khác
  - + Mẫu dương tính yếu IgM sởi
  - + Mẫu dương tính trung bình IgM sởi
  - + Mẫu dương tính mạnh IgM sởi
- Kiểm tra lại kết quả các mẫu bằng 2 bộ sinh phẩm với 2 nguyên lý khác nhau

#### 4.1.4. Sản xuất mẫu

- Lấy mẫu từ ngân hàng với thẻ tích yêu cầu cho đợt sản xuất
- Tổng thẻ tích mẫu cho sản xuất bao gồm lượng mẫu gửi đi, lượng mẫu hao hụt trong quá trình sản xuất: ly tâm tách huyết thanh/huyết tương, quá trình ổn định, thẩm định mẫu, kiểm tra tính đồng nhất. Tổng lượng mẫu chuẩn bị cho mỗi mẫu nên dư thêm khoảng 10% số đơn vị tham gia.
- Ghi chép lại toàn bộ quá trình lấy mẫu khỏi ngân hàng vào hồ sơ.



- Ví dụ tính thể tích mẫu: Thể tích mẫu = (số mẫu dự kiến của bộ mẫu x số bộ ( số thực gửi + số phòng gửi kiểm tra ổn định + số bộ giữ tại NIHE + số bộ dự phòng trong trường hợp cần sử dụng ) x 500ul/mẫu x số mẫu cần gửi x 15% hao phí

- Ghi chép đầy đủ hồ sơ các bước thực hiện của các công đoạn đối với từng loại mẫu.

#### 4.1.5. Đánh giá chất lượng mẫu

- Lựa chọn ngẫu nhiên tối thiểu 10 tuýp của mỗi mẫu để kiểm tra độ đồng nhất

- Tiêu chuẩn đánh giá độ đồng nhất: Các mẫu được coi là đồng nhất nếu kết quả của tất cả các lọ chia từ cùng 1 mẫu đều cho kết quả tương đồng. Nếu mẫu không đồng nhất, loại bỏ các Tuýp đã chia và sản xuất lại.

- Mỗi vòng, chọn tối thiểu 2 bộ mẫu gửi đến những đơn vị ở xa nhất (hoặc vận chuyển khó khăn nhất) để kiểm tra độ ổn định.

- Hướng dẫn cho đơn vị tham gia khi nhận các mẫu đánh giá độ ổn định

- Tiếp nhận các mẫu đánh giá độ ổn định và thực hiện đánh giá.

- Tiêu chuẩn đánh giá tính ổn định: Kết quả xét nghiệm (định tính) của các bộ mẫu phải tương đồng. Nếu kết quả không tương đồng tức là bộ mẫu không ổn định thì sẽ không tiến hành phân tích kết quả của vòng Ngoại kiểm đó.

#### 4.1.6. Đóng gói mẫu

- Công văn thông báo việc gửi mẫu sẽ được gửi đến các phòng thí nghiệm thành viên ít nhất một tuần trước khi gửi mẫu panel.

- Mẫu sau khi được chia ra ống sẽ được phân chia và dán nhãn theo mã hóa mẫu được quy định.

- Đậy nắp ống nghiệm, kiểm tra độ kín của nắp ống nghiệm sau khi đóng.

- Nêu chi tiết cách mẫu được đóng vào hộp, cách kiểm soát chất lượng khi đóng gói.

- Đóng gói mẫu cùng với công văn thông báo, hướng dẫn bộ mẫu và biểu mẫu hướng dẫn nhập kết quả. Tất cả được bỏ vào phong bì có dán sẵn địa chỉ nơi nhận và nơi gửi.

#### 4.1.7. Gửi mẫu đến các đơn vị

- Sau khi hoàn tất toàn bộ mẫu và biểu mẫu được đóng gói trong phong bì thì cán bộ được phân công sẽ đánh dấu vào danh sách gửi mẫu và đối chiếu tên đơn vị nhận với danh sách gửi mẫu.

- Bộ mẫu được gửi kèm với hướng dẫn sử dụng bộ mẫu.

- Đóng các biểu tượng an toàn sinh học lên phong bì gửi mẫu.

- Đối soát với bên vận chuyển và chốt số lượng

#### 4.1.8. Các đơn vị tham gia thực hiện xét nghiệm và nhập kết quả

- Các đơn vị thực hiện theo đúng hướng dẫn của nhà cung cấp, nhập các kết quả phản hồi cho đơn vị tổ chức chương trình ngoại kiểm.

#### 4.1.9. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm
- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.
- Tuân thủ các nguyên tắc khử nhiễm và xử lý chất thải phòng xét nghiệm theo Sổ tay An toàn của đơn vị.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Sau khi kết thúc ngày phản hồi kết quả của các đơn vị, gửi báo cáo sơ bộ cho các đơn vị tham gia.
- Cán bộ được phân công tiến hành phân tích dữ liệu theo các đầu mục yêu cầu.
- Liệt kê các chỉ số sẽ đưa vào báo cáo phản hồi cho các đơn vị.
- Nêu các cách đánh giá kết quả phù hợp và không phù hợp với các sinh phẩm sử dụng và với từng loại mẫu cụ thể.

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

##### 4.3.1. Báo cáo sơ bộ

- QLKT và Điều phối viên tổng hợp và soạn thảo báo cáo sơ bộ, Lãnh đạo đơn vị phê duyệt báo cáo sơ bộ.
- Sau khi kết thúc ngày phản hồi kết quả của các đơn vị, trong vòng 1 tháng báo cáo sơ bộ về kết quả của chương trình được gửi đến các đơn vị tham gia (nếu cần).

##### 4.3.2. Báo cáo kết quả

- Điều phối viên và QLKT sẽ chuẩn bị các bản báo cáo cuối cùng bao gồm báo cáo theo từng đơn vị ("Báo cáo kết quả Ngoại kiểm") và báo cáo cho toàn bộ các đơn vị tham gia ("Báo cáo tổng hợp chương trình Ngoại kiểm") để tóm tắt toàn bộ thông tin về vòng Ngoại kiểm và kết quả thực hiện của các đơn vị tham gia.

- Điều phối viên gửi bản báo cáo cho các chuyên gia tư vấn để góp ý (qua email). Các góp ý của chuyên gia tư vấn sẽ được cán bộ điều phối và QLKT xem xét và chỉnh sửa, bổ sung nếu phù hợp.

- Sau khi hoàn tất, Lãnh đạo đơn vị sẽ phê duyệt các bản báo cáo này cùng với chứng chỉ tham gia chương trình.

- Nhân viên chương trình sẽ gửi cho đơn vị tham gia qua email, bưu điện và điền hồ sơ "Phiếu theo dõi trả kết quả Ngoại kiểm".

- Mọi phản hồi từ các đơn vị tham gia sau khi nhận được báo cáo sẽ được nhân viên chương trình tiếp nhận, tổng hợp và xử lý.

- Trường hợp phát hiện sai sót trong các bản báo cáo đã ban hành, chương trình phải có thông báo hết hiệu lực của các bản báo cáo cũ và thu hồi lại (nếu có thể) trước khi sửa đổi và ban hành bản báo cáo mới. Bản báo cáo sửa đổi phải có mã số riêng, viện dẫn tới báo cáo gốc, ghi rõ đây là báo cáo sửa đổi và lý do sửa đổi.

- Các báo cáo kết quả được gửi đến các đơn vị tham gia bao gồm:
  - + Báo cáo tổng hợp



- + Báo cáo từng phòng
- + Chứng nhận tham gia chương trình.

#### 4.3.3. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu đăng ký tham gia chương trình
2	Kế hoạch năm, kế hoạch vòng ngoại kiểm
3	Báo cáo sơ bộ
4	Báo cáo từng phòng
5	Báo cáo tổng hợp
6	Chứng nhận tham gia chương trình

#### 4.3.4. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

- Mẫu dùng để sản xuất không đủ số lượng và chất lượng.
- Sinh phẩm bị nhiễm.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu không đạt yêu cầu về độ đồng nhất và ổn định.

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Phân tích kết quả: Sai số trong nhập liệu, nhầm lẫn hoặc thiếu thông tin trong báo cáo của đơn vị tham gia....

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Các kỹ thuật xét nghiệm khi thực hiện tuân thủ theo đúng quy định kiểm soát chất lượng của từng kỹ thuật thực hiện.
- Độ đồng nhất đạt yêu cầu mới gửi mẫu cho các đơn vị tham gia
- Các nguyên vật liệu trước khi đưa vào sử dụng cần được kiểm tra chất lượng.
- Các trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ và trong thời hạn hiệu chuẩn.
- Điều kiện môi trường của PTN phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO



- TCVN ISO/IEC 17043:2011, Đánh giá sự phù hợp – Yêu cầu chung đối với thử nghiệm thành thạo.

- ISO/IEC 17043:2023, Conformity assessment - General requirements for the competence of proficiency testing providers.

- Tài liệu đào tạo về xây dựng chương trình Ngoại kiểm của NRL, Úc.

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm ELISA

- Thông tư số 53/2017/TT-BYT quy định thời hạn bảo quản hồ sơ, tài liệu chuyên môn nghiệp vụ ngành y tế ban hành ngày 29/12/2017.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 259:****CUNG CẤP CHƯƠNG TRÌNH NGOẠI KIỂM HUYẾT THANH HỌC  
CHẨN ĐOÁN RUBELLA****1. ĐẠI CƯƠNG****1.1. Mục đích**

Quy trình này mô tả các hoạt động của quá trình điều phối, sản xuất mẫu ngoại kiểm huyết thanh học chẩn đoán rubella.

**1.2. Định nghĩa****1.2.1. Giải thích từ ngữ**

- Chương trình ngoại kiểm: Chương trình ngoại kiểm tra do một đơn vị bên ngoài là tổ chức độc lập có vai trò trách nhiệm trong việc xây dựng và vận hành chương trình ngoại kiểm tra – so sánh liên phòng.

- Điều phối viên/Nhóm điều phối: Một hay nhiều cá nhân chịu trách nhiệm tổ chức và quản lý mọi hoạt động liên quan trong việc triển khai một chương trình ngoại kiểm.

**1.2.2. Từ viết tắt**

- EQA: External Quality Assurance (Chương trình đánh giá chất lượng từ bên ngoài - chương trình ngoại kiểm)

- SOP: Standard Operating Procedure (Quy trình chuẩn)

- QLCL: Quản lý chất lượng

- QLKT: Quản lý kỹ thuật

- HDSD: Hướng dẫn sử dụng

**1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng.

**2. CHUẨN BỊ****2.1. Người thực hiện**

- Các hoạt động cung cấp chương trình ngoại kiểm: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiết trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

**2.2. Vật tư****2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

- Sinh phẩm ELISA rubella tương ứng

- Nước cất vô trùng

- Dung dịch bảo quản

- Mẫu huyết tương/huyết thanh
- + Mẫu âm
- + Mẫu dương

Bảo quản sinh phẩm, hoá chất theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Tuýp ly tâm 1,5 -2,0 mL nắp xoáy
- Tuýp ly tâm 2 mL nắp bật
- Đầu côn không lọc các loại
- Pipet nhựa các loại, tiệt trùng
- Hộp đựng mẫu 90/100 vị trí
- Khẩu trang y tế
- Găng tay không bột các kích cỡ
- Giấy thấm
- khay lạnh
- Máng nhựa đựng dung dịch
- Ống đong 1000mL
- Giá để tuýp.
- Micropipet các cỡ
- Trợ pipet
- Đá gel
- Thùng xốp
- Túi nilon có khóa
- Nilon chống va đập
- Hộp đựng carton đóng gói
- Nhãn của bộ mẫu
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

#### 2.3. Thiết bị

- Máy lắc
- Lò sấy khô/nồi hấp tiệt trùng
- Máy ly tâm thường/máy ly tâm lạnh
- Tủ an toàn sinh học



- Tủ lạnh thường/tủ lạnh âm
- Máy đọc phiến ELISA
- Máy rửa phiến ELISA
- Máy ủ phiến ELISA
- Hệ thống các thiết bị văn phòng: máy tính, máy in, điều hoà, máy barcode, phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm

#### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm**

##### **2.4.1. Chuẩn bị bệnh nhân:**

Không áp dụng

##### **2.4.2. Thu thập và xử lý mẫu ban đầu**

- Loại mẫu xét nghiệm: mẫu huyết thanh.
- Liệt kê dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, các bước thu thập, bảo quản, vận chuyển mẫu hoặc viện dẫn đến quy trình lấy mẫu tương ứng.
- Tiêu chí chấp nhận mẫu: mẫu còn đủ thể tích từ 500ul trở lên.

#### **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

Không áp dụng

#### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Tổng số ngày thực hiện 7 ngày (đã bao gồm các vị trí việc làm)

#### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Phòng xét nghiệm.

### **3. AN TOÀN**

Tuân thủ các nguyên tắc thực hành an toàn sinh học cấp 2.

### **4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **4.1. Các bước thực hiện**

##### **4.1.1. Lập kế hoạch**

- Cán bộ có thẩm quyền sẽ thảo luận với các cán bộ tham gia thực hiện chương trình để thiết lập kế hoạch thực hiện trước khi lập kế hoạch.

- Kế hoạch năm được thiết lập đầu năm và được phê duyệt bởi người có thẩm quyền bao gồm:

- + Mục tiêu và loại mẫu sản xuất trong năm
- + Tiêu chí các đơn vị tham gia
- + Người chịu trách nhiệm
- + Tên và địa chỉ của người ký hợp đồng nếu có
- + Danh sách các đơn vị dự kiến tham gia
- + Số bộ mẫu cung cấp trong năm



- + Thời gian cho từng đợt cung cấp
- + Thể tích mẫu cần sử dụng
- + Các hướng dẫn và chi tiết thiết kế bộ mẫu
- Kế hoạch vòng ngoại kiểm: được xây dựng trước khi triển khai mỗi đợt cung cấp mẫu, bao gồm tối thiểu các nội dung:
  - + Thiết kế mẫu
  - + Khung thời gian cho quy trình
  - + Thời hạn của chương trình
  - + Thể tích và số lượng mẫu yêu cầu cho từng loại mẫu

#### 4.1.2. Đăng ký tham gia

- Thông báo chương trình và Biểu mẫu đăng ký tham gia sẽ được gửi đến các đơn vị.
- Thu thập đăng ký và cập nhật vào danh sách tham gia, gán mã riêng biệt cho từng đơn vị
- Kiểm tra lượng mẫu trong ngân hàng mẫu, nếu mẫu chưa có sẵn hoặc thiếu so với lượng cần thì cần có kế hoạch bổ sung mẫu (thu thập hoặc mua mẫu)
- Soạn hợp đồng và gửi hợp đồng đến các đơn vị đăng ký tham gia, thương thảo và hoàn thiện các hợp đồng ngoại kiểm.

#### 4.1.3. Chuẩn bị ngân hàng mẫu

- Dựa vào kết quả xét nghiệm phát hiện IgM rubella, lựa chọn các mẫu vào ngân hàng mẫu theo tiêu chí:
  - + Thể tích còn lại trong mỗi mẫu >0,5mL
  - + Mẫu không bị tan huyết, vón cục, lipid hóa, nhiễm khuẩn
  - Mẫu sau đó được phân vào các nhóm
  - + Mẫu âm tính với IgM rubella, dương tính với một số tác nhân khác
  - + Mẫu dương tính yếu IgM rubella
  - + Mẫu dương tính trung bình IgM rubella
  - + Mẫu dương tính mạnh IgM rubella
- Kiểm tra lại kết quả các mẫu bằng 2 bộ sinh phẩm với 2 nguyên lý khác nhau

#### 4.1.4. Sản xuất mẫu

- Lấy mẫu từ ngân hàng với thể tích yêu cầu cho đợt sản xuất
- Tổng thể tích mẫu cho sản xuất bao gồm lượng mẫu gửi đi, lượng mẫu hao hụt trong quá trình sản xuất: ly tâm tách huyết thanh/huyết tương, quá trình ổn định, thẩm định mẫu, kiểm tra tính đồng nhất. Tổng lượng mẫu chuẩn bị cho mỗi mẫu nên dư thêm khoảng 10% số đơn vị tham gia.
- Ghi chép lại toàn bộ quá trình lấy mẫu khỏi ngân hàng vào hồ sơ.

- Ví dụ tính thể tích mẫu: Thể tích mẫu = (số mẫu dự kiến của bộ mẫu x số bộ ( số thực gửi + số phòng gửi kiểm tra ổn định + số bộ giữ tại NIHE + số bộ dự phòng trong trường hợp cần sử dụng ) x 500ul/mẫu x số mẫu cần gửi x 15% hao phí

- Ghi chép đầy đủ hồ sơ các bước thực hiện của các công đoạn đối với từng loại mẫu.

#### 4.1.5. Đánh giá chất lượng mẫu

- Lựa chọn ngẫu nhiên tối thiểu 10 tuýp của mỗi mẫu để kiểm tra độ đồng nhất

- Tiêu chuẩn đánh giá độ đồng nhất: Các mẫu được coi là đồng nhất nếu kết quả của tất cả các lọ chia từ cùng 1 mẫu đều cho kết quả tương đồng. Nếu mẫu không đồng nhất, loại bỏ các Tuýp đã chia và sản xuất lại.

- Mỗi vòng, chọn tối thiểu 2 bộ mẫu gửi đến những đơn vị ở xa nhất (hoặc vận chuyển khó khăn nhất) để kiểm tra độ ổn định.

- Hướng dẫn cho đơn vị tham gia khi nhận các mẫu đánh giá độ ổn định

- Tiếp nhận các mẫu đánh giá độ ổn định và thực hiện đánh giá.

- Tiêu chuẩn đánh giá tính ổn định: Kết quả xét nghiệm (định tính) của các bộ mẫu phải tương đồng. Nếu kết quả không tương đồng tức là bộ mẫu không ổn định thì sẽ không tiến hành phân tích kết quả của vòng Ngoại kiểm đó.

#### 4.1.6. Đóng gói mẫu

- Công văn thông báo việc gửi mẫu sẽ được gửi đến các phòng thí nghiệm thành viên ít nhất một tuần trước khi gửi mẫu panel.

- Mẫu sau khi được chia ra ống sẽ được phân chia và dán nhãn theo mã hóa mẫu được quy định.

- Đậy nắp ống nghiệm, kiểm tra độ kín của nắp ống nghiệm sau khi đóng.

- Nêu chi tiết cách mẫu được đóng vào hộp, cách kiểm soát chất lượng khi đóng gói.

- Đóng gói mẫu cùng với công văn thông báo, hướng dẫn bộ mẫu và biểu mẫu hướng dẫn nhập kết quả. Tất cả được bỏ vào phong bì có dán sẵn địa chỉ nơi nhận và nơi gửi.

#### 4.1.7. Gửi mẫu đến các đơn vị

- Sau khi hoàn tất toàn bộ mẫu và biểu mẫu được đóng gói trong phong bì thì cán bộ được phân công sẽ đánh dấu vào danh sách gửi mẫu và đối chiếu tên đơn vị nhận với danh sách gửi mẫu.

- Bộ mẫu được gửi kèm với hướng dẫn sử dụng bộ mẫu.

- Đóng các biểu tượng an toàn sinh học lên phong bì gửi mẫu.

- Đối soát với bên vận chuyển và chốt số lượng

#### 4.1.8. Các đơn vị tham gia thực hiện xét nghiệm và nhập kết quả

- Các đơn vị thực hiện theo đúng hướng dẫn của nhà cung cấp, nhập các kết quả phản hồi cho đơn vị tổ chức chương trình ngoại kiểm.



#### 4.1.9. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm
- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.
- Tuân thủ các nguyên tắc khử nhiễm và xử lý chất thải phòng xét nghiệm theo Sổ tay An toàn của đơn vị.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Sau khi kết thúc ngày phản hồi kết quả của các đơn vị, gửi báo cáo sơ bộ cho các đơn vị tham gia.
- Cán bộ được phân công tiến hành phân tích dữ liệu theo các đầu mục yêu cầu.
- Liệt kê các chỉ số sẽ đưa vào báo cáo phản hồi cho các đơn vị.
- Nêu các cách đánh giá kết quả phù hợp và không phù hợp với các sinh phẩm sử dụng và với từng loại mẫu cụ thể.

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

##### 4.3.1. Báo cáo sơ bộ

- QLKT và Điều phối viên tổng hợp và soạn thảo báo cáo sơ bộ, Lãnh đạo đơn vị phê duyệt báo cáo sơ bộ.
- Sau khi kết thúc ngày phản hồi kết quả của các đơn vị, trong vòng 1 tháng báo cáo sơ bộ về kết quả của chương trình được gửi đến các đơn vị tham gia (nếu cần).

##### 4.3.2. Báo cáo kết quả

- Điều phối viên và QLKT sẽ chuẩn bị các bản báo cáo cuối cùng bao gồm báo cáo theo từng đơn vị ("Báo cáo kết quả Ngoại kiểm") và báo cáo cho toàn bộ các đơn vị tham gia ("Báo cáo tổng hợp chương trình Ngoại kiểm") để tóm tắt toàn bộ thông tin về vòng Ngoại kiểm và kết quả thực hiện của các đơn vị tham gia.

- Điều phối viên gửi bản báo cáo cho các chuyên gia tư vấn để góp ý (qua email). Các góp ý của chuyên gia tư vấn sẽ được cán bộ điều phối và QLKT xem xét và chỉnh sửa, bổ sung nếu phù hợp.

- Sau khi hoàn tất, Lãnh đạo đơn vị sẽ phê duyệt các bản báo cáo này cùng với chứng chỉ tham gia chương trình.

- Nhân viên chương trình sẽ gửi cho đơn vị tham gia qua email, bưu điện và điền hồ sơ "Phiếu theo dõi trả kết quả Ngoại kiểm".

- Mọi phản hồi từ các đơn vị tham gia sau khi nhận được báo cáo sẽ được nhân viên chương trình tiếp nhận, tổng hợp và xử lý.

- Trường hợp phát hiện sai sót trong các bản báo cáo đã ban hành, chương trình phải có thông báo hết hiệu lực của các bản báo cáo cũ và thu hồi lại (nếu có thể) trước khi sửa đổi và ban hành bản báo cáo mới. Bản báo cáo sửa đổi phải có mã số riêng, viện dẫn tới báo cáo gốc, ghi rõ đây là báo cáo sửa đổi và lý do sửa đổi.

- Các báo cáo kết quả được gửi đến các đơn vị tham gia bao gồm:

+ Báo cáo tổng hợp

- + Báo cáo từng phòng
- + Chứng nhận tham gia chương trình.

#### 4.3.3. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu đăng ký tham gia chương trình
2	Kế hoạch năm, kế hoạch vòng ngoại kiểm
3	Báo cáo sơ bộ
4	Báo cáo từng phòng
5	Báo cáo tổng hợp
6	Chứng nhận tham gia chương trình

#### 4.3.4. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

- Mẫu dùng để sản xuất không đủ số lượng và chất lượng.
- Sinh phẩm bị nhiễm.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Mẫu không đạt yêu cầu về độ đồng nhất và ổn định.

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Phân tích kết quả: Sai số trong nhập liệu, nhầm lẫn hoặc thiếu thông tin trong báo cáo của đơn vị tham gia....

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Các kỹ thuật xét nghiệm khi thực hiện tuân thủ theo đúng quy định kiểm soát chất lượng của từng kỹ thuật thực hiện.

- Độ đồng nhất đạt yêu cầu mới gửi mẫu cho các đơn vị tham gia
- Các nguyên vật liệu trước khi đưa vào sử dụng cần được kiểm tra chất lượng.
- Các trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ và trong thời hạn hiệu chuẩn.

- Điều kiện môi trường của PTN phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- TCVN ISO/IEC 17043:2011, Đánh giá sự phù hợp – Yêu cầu chung đối với thử nghiệm thành thạo.
- ISO/IEC 17043:2023, Conformity assessment - General requirements for the competence of proficiency testing providers.
- Tài liệu đào tạo về xây dựng chương trình Ngoại kiểm của NRL, Úc.
- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm ELISA
- Thông tư số 53/2017/TT-BYT quy định thời hạn bảo quản hồ sơ, tài liệu chuyên môn nghiệp vụ ngành y tế ban hành ngày 29/12/2017.



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 260:**  
**CUNG CẤP CHƯƠNG TRÌNH NGOẠI KIỂM HUYẾT THANH HỌC**  
**CHẨN ĐOÁN SỐT XUẤT HUYẾT DENGUE**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này mô tả các hoạt động của quá trình điều phối, sản xuất mẫu ngoại kiểm huyết thanh học chẩn đoán sốt xuất huyết Dengue.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

- **Chương trình ngoại kiểm:** Chương trình ngoại kiểm tra do một đơn vị bên ngoài là tổ chức độc lập có vai trò trách nhiệm trong việc xây dựng và vận hành chương trình ngoại kiểm tra – so sánh liên phòng.

- **Điều phối viên/Nhóm điều phối:** Một hay nhiều cá nhân chịu trách nhiệm tổ chức và quản lý mọi hoạt động liên quan trong việc triển khai một chương trình ngoại kiểm.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- EQA: Chương trình đánh giá chất lượng từ bên ngoài (chương trình ngoại kiểm)
- SOP: Quy trình chuẩn
- QLCL: Quản lý chất lượng
- QLKT: Quản lý kỹ thuật
- HDSD: Hướng dẫn sử dụng
- STAT: Sổ tay An toàn Phòng thí nghiệm

### **1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Các hoạt động cung cấp chương trình ngoại kiểm: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư tiêu hao:**

#### **2.2.1. Nguyên vật liệu cơ bản cho sản xuất:**

- Găng tay có bột tan các kích cỡ
- Khẩu trang y tế

- Tuýp 1,5 mL tiệt trùng
- Ống lưu mẫu 2 mL có nắp xoáy chịu được nhiệt độ âm sâu
- Tuýp 0,5 mL (nắp xoáy, có O-ring) đã tiệt trùng
- Ống 5-20 mL
- Hộp lưu mẫu 80-100 vị trí chịu được nhiệt
- Ống ly tâm
- Màng lọc/Giấy lọc
- Đầu côn (típ) các loại 100  $\mu$ L, 200  $\mu$ L; 1000  $\mu$ L
- Micropipet (10-1000  $\mu$ L)
- Pipet phân chia
- Trợ pipet
- Pipet nhựa
- Nhãn in Barcode + mực
- Giấy lau phòng xét nghiệm
- Nước cất 2 lần
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

#### 2.2.2. Nguyên vật liệu đặc thù cho sản xuất:

- Sinh phẩm ELISA
- Sinh phẩm nhanh
- Chất tiệt khuẩn (Proclin 300)
- Mẫu huyết tương/huyết thanh

+Mẫu âm

+Mẫu dương

#### 2.2.3. Nguyên vật liệu cho đóng gói mẫu:

- Túi nilon có khóa
- Nilon chống va đập
- Hộp đựng carton đóng gói
- Băng dính
- Nhãn của bộ mẫu

### 2.3. Thiết bị

- Tủ lạnh -80°C
- Tủ lạnh 2°C-8°C

- Tủ an toàn sinh học cấp II
- Máy ổn nhiệt
- Máy khuấy từ, con từ
- Máy bơm
- Máy tính
- Máy in
- Máy in nhãn (barcode)
- Máy vortex
- Đồng hồ đo thời gian
- Máy ly tâm
- Hệ thống máy ELISA (máy đọc, máy rửa, máy ủ)
- Nồi hấp

#### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm**

- Loại mẫu: huyết tương, huyết thanh.

#### **2.5. Phiếu đăng ký tham gia**

- Phiếu đăng ký tham gia chương trình ngoại kiểm đảm bảo đủ các thông tin cần thiết.

#### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

- Thời gian từ khi lập kế hoạch vòng đến khi ban hành báo cáo tổng hợp vòng ngoại kiểm: 6 tháng

#### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

- Mẫu được sản xuất, đánh giá tại phòng xét nghiệm.
- Nhập liệu, phân tích, báo cáo kết quả tại khu vực văn phòng.

### **3. AN TOÀN**

- Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học cấp II.

### **4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **4.1. Các bước thực hiện**

##### **4.1.1. Lập kế hoạch**

- Cán bộ có thẩm quyền sẽ thảo luận với các cán bộ tham gia thực hiện chương trình để thiết lập kế hoạch thực hiện trước khi lập kế hoạch.

- Kế hoạch năm được thiết lập đầu năm và được phê duyệt bởi người có thẩm quyền bao gồm:

- + Mục tiêu và loại mẫu sản xuất trong năm
- + Tiêu chí các đơn vị tham gia
- + Người chịu trách nhiệm



- +Tên và địa chỉ của người ký hợp đồng nếu có
- +Danh sách các đơn vị dự kiến tham gia
- +Số bộ mẫu cung cấp trong năm
- +Thời gian cho từng đợt cung cấp
- +Thẻ tích mẫu cần sử dụng
- +Các hướng dẫn và chi tiết thiết kế bộ mẫu
- Kế hoạch vòng ngoại kiểm: được xây dựng trước khi triển khai mỗi đợt cung cấp mẫu, bao gồm tối thiểu các nội dung:
  - +Thiết kế mẫu
  - + Khung thời gian cho quy trình
  - + Thời hạn của chương trình
  - + Thẻ tích và số lượng mẫu yêu cầu cho từng loại mẫu

#### 4.1.2. Đăng ký tham gia

- Thông báo chương trình và Biểu mẫu đăng ký tham gia sẽ được gửi đến các đơn vị.
- Thu thập đăng ký và cập nhật vào danh sách tham gia, gán mã riêng biệt cho từng đơn vị.
- Kiểm tra lượng mẫu trong ngân hàng mẫu, nếu mẫu chưa có sẵn hoặc thiếu so với lượng cần thì cần có kế hoạch bổ sung mẫu (thu thập hoặc mua mẫu)
- Soạn hợp đồng và gửi hợp đồng đến các đơn vị đăng ký tham gia, thương thảo và hoàn thiện các hợp đồng ngoại kiểm.

#### 4.1.3. Sản xuất mẫu và xác định đặc tính mẫu

- Thu thập mẫu huyết thanh/huyết tương âm tính và dương tính với kháng thể kháng vi rút Dengue
- Lấy mẫu từ ngân hàng với thẻ tích yêu cầu cho đợt sản xuất.
- Lưu và bảo quản mẫu và hồ sơ liên quan đến mẫu
- Xác nhận đặc tính các mẫu huyết thanh/ huyết tương bằng 2 sinh phẩm thương mại khác nhau (1 sinh phẩm ELISA và 1 test nhanh).
- Nhân viên quản lý ngân hàng mẫu cấp cho mỗi mẫu một mã số duy nhất. Chia mẫu vào các Tuýp và ghi nhãn Tuýp chứa các thông tin sau: mã Tuýp mẫu, ngày chia mẫu.
- Các Tuýp mẫu được xếp vào hộp lưu ở nhiệt độ  $-70\pm 5^{\circ}\text{C}$  và cập nhật thông tin mẫu vào file cơ sở dữ liệu. Định kỳ 3 tháng/lần sao lưu cơ sở dữ liệu của ngân hàng mẫu.
- Khi muốn hủy mẫu (mẫu bị nhiễm, còn thừa sau rã đông lần 2 v.v), nhân viên quản lý ngân hàng mẫu sẽ điền hồ sơ và trình cho điều phối viên/QLKT phê duyệt. Việc hủy mẫu phải tuân thủ các quy định về an toàn sinh học

- Sau khi tập hợp đủ thông tin về số lượng đơn vị tham gia mỗi vòng, QLKT/Cán bộ điều phối tính toán tổng thể tích mẫu cho sản xuất bao gồm:

- + Lượng mẫu gửi đi (bằng thể tích mẫu x số đơn vị tham gia);
  - + Lượng mẫu lưu và dự trữ trường hợp phải gửi lại mẫu cho đơn vị tham gia (khoảng 20% lượng mẫu gửi đi);
  - + Lượng mẫu kiểm tra độ đồng nhất;
  - + Lượng mẫu kiểm tra độ ổn định;
  - + Lượng mẫu hao hụt trong quá trình sản xuất như ly tâm, chia mẫu (35%).
- Đối chiếu với cơ sở dữ liệu của ngân hàng mẫu để lựa chọn các mẫu phù hợp theo thể tích đã tính toán và ghi chép thông tin các mẫu được lựa chọn.
- Trường hợp không đủ lượng mẫu, QLKT/ cán bộ điều phối cần liên hệ để thu thập ngay mẫu bổ sung.
- Chuẩn bị mẫu: Lấy các mẫu đã lựa chọn ra khỏi tủ âm sâu, đặt vào khay inox, làm tan mẫu
- Ly tâm mẫu.
  - Dùng pipet aid hút nhẹ nhàng phân dung dịch trong sang Tuýp mới.
  - Kiểm tra lại đặc tính các mẫu bằng 01 sinh phẩm thương mại (ELISA hoặc test nhanh).
  - Nếu thể tích của một mẫu từ ngân hàng mẫu không đủ, có thể cần phải hỗn các mẫu khác nhau để thu được đủ thể tích mẫu cho sản xuất.
  - Tiến hành pha loãng mẫu hoặc mẫu hỗn dương tính. Xác định nồng độ kháng thể của mẫu dương tính bằng 1 kit ELISA thương mại và 1 test nhanh. Từ kết quả chuẩn độ, lựa chọn độ pha loãng phù hợp sao cho mẫu là dương tính ở cả 2 kỹ thuật đã làm.
  - Sau khi đã chọn được độ pha loãng thích hợp, pha loãng mẫu dương tính bằng mẫu huyết thanh âm tính.
  - Kiểm tra lại đặc tính mẫu sau pha loãng bằng test nhanh. Nếu kết quả không phù hợp, sẽ kiểm tra lại bằng kỹ thuật ELISA. Nếu kết quả vẫn không phù hợp thì cần tính toán lại để bổ sung thêm lượng mẫu (dương tính hoặc âm tính) đến khi nào kết quả là phù hợp mới chuyển sang bước tiếp theo.
  - Cho chất diệt khuẩn để đạt nồng độ cuối cùng và lắc đều tại nhiệt và thời gian phù hợp.
  - Mẫu sau khi trộn đều sẽ được chia ra các Tuýp 0,5 mL (nắp xoáy, có O-ring) đã tiệt trùng với lượng thể tích đã xác định trong kế hoạch vòng
  - Lưu ý khi chia mẫu phải tuân thủ các nguyên tắc sau:
    - + Thực hiện trong tủ an toàn sinh học;
    - + Chia mẫu âm tính rồi mới đến mẫu dương tính;
    - + Tại mỗi thời điểm chỉ được chia một mẫu, để tránh nhầm lẫn giữa các mẫu;
    - Đậy chặt nắp Tuýp và xếp vào các hộp tương ứng đã dán nhãn



- Chọn một số mẫu để kiểm tra tính đồng nhất của mẫu chia.

#### 4.1.4. Đánh giá chất lượng mẫu

##### a. Đánh giá độ đồng nhất

- Lựa chọn ngẫu nhiên tối thiểu 10 tuýp của mỗi mẫu để kiểm tra độ đồng nhất

- Sau đó dùng một sinh phẩm thương mại để xét nghiệm các Tuýp đã lựa chọn. Mỗi mẫu sẽ được lặp lại 2 lần.

- Tiêu chuẩn đánh giá độ đồng nhất: Các mẫu được coi là đồng nhất nếu kết quả của tất cả các lọ chia từ cùng 1 mẫu đều cho kết quả tương đồng. Nếu mẫu không đồng nhất, loại bỏ các Tuýp đã chia và sản xuất lại.

##### b. Đánh giá tính ổn định

- Mỗi vòng, chọn tối thiểu 2 bộ mẫu gửi đến những đơn vị ở xa nhất (hoặc vận chuyển khó khăn nhất) để kiểm tra độ ổn định.

- Hướng dẫn cho đơn vị tham gia khi nhận các mẫu đánh giá độ ổn định

- Tiếp nhận các mẫu đánh giá độ ổn định để thực hiện đánh giá.

- Tương ứng với đó để làm đối chứng, số lượng bộ mẫu tương tự được lưu tại phòng xét nghiệm của Chương trình trong điều kiện bảo quản quy định của bộ mẫu.

- Sau ngày đóng vòng, các bộ mẫu sẽ cùng được đánh giá sử dụng 02 sinh phẩm thương mại (1 ELISA và 1 test nhanh).

- Tiêu chuẩn đánh giá tính ổn định: Kết quả xét nghiệm (định tính) của các bộ mẫu phải tương đồng. Nếu kết quả không tương đồng tức là bộ mẫu không ổn định thì sẽ không tiến hành phân tích kết quả của vòng Ngoại kiểm đó.

- Chuyển các hộp này sang khu vực dán nhãn để dán nhãn cho mỗi Tuýp .

- Các bộ mẫu Ngoại kiểm dự phòng thay thế, các mẫu Ngoại kiểm dư lại sẽ được bảo quản ở nhiệt độ phù hợp đến hết thời gian phản hồi về báo cáo tổng hợp kết quả chương trình của các đơn vị rồi chuyển vào tủ âm bảo quản tối thiểu 1 năm.

- Ghi chép đầy đủ hồ sơ các bước thực hiện của các công đoạn đối với từng loại mẫu.

#### 4.1.5. Đóng gói mẫu

- Công văn thông báo việc gửi mẫu sẽ được gửi đến các phòng thí nghiệm thành viên ít nhất một tuần trước khi gửi mẫu panel.

- Mẫu sau khi được chia ra ống sẽ được phân chia và dán nhãn theo mã hóa mẫu được quy định.

- Đậy nắp ống nghiệm, kiểm tra độ khít của nắp ống nghiệm sau khi đóng.

- Nêu chi tiết cách mẫu được đóng vào hộp, cách kiểm soát chất lượng khi đóng gói.

- Đóng gói mẫu cùng với công văn thông báo, hướng dẫn bộ mẫu và biểu mẫu hướng dẫn nhập kết quả. Tất cả được bỏ vào phong bì có dán sẵn địa chỉ nơi nhận và nơi gửi.



#### 4.1.6. Gửi mẫu đến các đơn vị

- Sau khi hoàn tất toàn bộ mẫu và biểu mẫu được đóng gói trong phong bì thì cán bộ được phân công sẽ đánh dấu vào danh sách gửi mẫu và đối chiếu tên đơn vị nhận với danh sách gửi mẫu.

- Bộ mẫu được gửi kèm với hướng dẫn sử dụng bộ mẫu.
- Đóng các biểu tượng an toàn sinh học lên phong bì gửi mẫu.
- Đối soát với bên vận chuyển và chốt số lượng.

#### 4.1.7. Tiếp nhận kết quả của các đơn vị tham gia

- Các đơn vị thực hiện xét nghiệm theo đúng hướng dẫn của nhà cung cấp, nhập các kết quả phản hồi cho chương trình ngoại kiểm. Cán bộ của chương trình ngoại kiểm tiếp nhận và xác nhận kết quả của các đơn vị tham gia gửi về.

#### 4.1.8. Nhập và kiểm tra dữ liệu

- Cán bộ chương trình nhận báo cáo từ các đơn vị tham gia, kiểm tra báo cáo điền thông tin nhận mẫu và nhập dữ liệu (nhập 2 lần).

- Sau khi kết thúc nhập liệu, QLCL/QLKT kiểm tra dữ liệu đã nhập và báo cáo của các đơn vị.

- Kiểm tra kết quả của đơn vị và liên hệ, hỗ trợ đơn vị tham gia nhận ra sự không phù hợp, điều tra nguyên nhân gốc rễ.

#### 4.1.9. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm
- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.
- Tuân thủ các nguyên tắc khử nhiễm và xử lý chất thải phòng xét nghiệm theo Sổ tay An toàn của đơn vị.

### 4.2. Nhận định kết quả

- Sau khi kết thúc ngày phản hồi kết quả của các đơn vị, gửi báo cáo sơ bộ cho các đơn vị tham gia.

- Cán bộ được phân công tiến hành phân tích dữ liệu theo các đầu mục yêu cầu.
- Liệt kê các chỉ số sẽ đưa vào báo cáo phản hồi cho các đơn vị.
- Nêu các cách đánh giá kết quả phù hợp và không phù hợp với các sinh phẩm sử dụng và với từng loại mẫu cụ thể.

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Báo cáo sơ bộ

- QLKT và Điều phối viên tổng hợp và soạn thảo báo cáo sơ bộ, Lãnh đạo đơn vị phê duyệt báo cáo sơ bộ.

- Sau khi kết thúc ngày phản hồi kết quả của các đơn vị, trong vòng 1 tháng báo cáo sơ bộ về kết quả của chương trình được gửi đến các đơn vị tham gia (nếu cần).

#### 4.3.2. Báo cáo kết quả

- Điều phối viên và QLKT sẽ chuẩn bị các bản báo cáo cuối cùng bao gồm báo cáo theo từng đơn vị ("Báo cáo kết quả Ngoại kiểm") và báo cáo cho toàn bộ các đơn vị tham gia ("Báo cáo tổng hợp chương trình Ngoại kiểm") để tóm tắt toàn bộ thông tin về vòng Ngoại kiểm và kết quả thực hiện của các đơn vị tham gia.

- Điều phối viên gửi bản báo cáo cho các chuyên gia tư vấn để góp ý (qua email). Các góp ý của chuyên gia tư vấn sẽ được cán bộ điều phối và QLKT xem xét và chỉnh sửa, bổ sung nếu phù hợp.

- Sau khi hoàn tất, Lãnh đơn vị sẽ phê duyệt các bản báo cáo này cùng với chứng chỉ tham gia chương trình.

- Nhân viên chương trình sẽ gửi cho đơn vị tham gia qua email, bưu điện và điền hồ sơ "Phiếu theo dõi trả kết quả Ngoại kiểm".

- Mọi phản hồi từ các đơn vị tham gia sau khi nhận được báo cáo sẽ được nhân viên chương trình tiếp nhận, tổng hợp và xử lý.

- Trường hợp phát hiện sai sót trong các bản báo cáo đã ban hành, chương trình phải có thông báo hết hiệu lực của các bản báo cáo cũ và thu hồi lại (nếu có thể) trước khi sửa đổi và ban hành bản báo cáo mới. Bản báo cáo sửa đổi phải có mã số riêng, viện dẫn tới báo cáo gốc, ghi rõ đây là báo cáo sửa đổi và lý do sửa đổi.

- Các báo cáo kết quả được gửi đến các đơn vị tham gia bao gồm:

+Báo cáo tổng hợp

+Báo cáo từng phòng

+Chứng nhận tham gia chương trình.

#### 4.3.3. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1.	Phiếu đăng ký tham gia chương trình
2.	Kế hoạch năm, kế hoạch vòng ngoại kiểm
3.	Báo cáo sơ bộ
4.	Báo cáo từng phòng
5.	Báo cáo tổng hợp
6.	Chứng nhận tham gia chương trình

#### 4.3.4. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm.

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

- Mẫu dùng để sản xuất không đủ số lượng và chất lượng.
- Sinh phẩm bị nhiễm.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu không đạt yêu cầu về độ đồng nhất và ổn định.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Phân tích kết quả: Sai số trong nhập liệu, nhầm lẫn hoặc thiếu thông tin trong báo cáo của đơn vị tham gia....

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Các kỹ thuật xét nghiệm khi thực hiện tuân thủ theo đúng quy định kiểm soát chất lượng của từng kỹ thuật thực hiện.
- Độ đồng nhất đạt yêu cầu mới gửi mẫu cho các đơn vị tham gia
- Các nguyên vật liệu trước khi đưa vào sử dụng cần được kiểm tra chất lượng.
- Các trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ và trong thời hạn hiệu chuẩn.
- Điều kiện môi trường của PTN phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- TCVN ISO/IEC 17043:2011, Đánh giá sự phù hợp – Yêu cầu chung đối với thử nghiệm thành thạo.
- ISO/IEC 17043:2023, Conformity assessment - General requirements for the competence of proficiency testing providers.
- ISO 13528: 2015: Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison
- Tài liệu đào tạo về xây dựng chương trình Ngoại kiểm của NRL, Úc.





**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 261:**  
**CUNG CẤP CHƯƠNG TRÌNH NGOẠI KIỂM**  
**VI KHUẨN GÂY BỆNH ĐƯỜNG RUỘT**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này mô tả các hoạt động của quá trình điều phối, sản xuất mẫu ngoại kiểm vi khuẩn gây bệnh đường ruột.

### **1.2. Định nghĩa**

#### 1.2.1. Giải thích từ ngữ

- **Chương trình ngoại kiểm:** Chương trình ngoại kiểm tra do một đơn vị bên ngoài là tổ chức độc lập có vai trò trách nhiệm trong việc xây dựng và vận hành chương trình ngoại kiểm tra – so sánh liên phòng.

- **Điều phối viên/Nhóm điều phối:** Một hay nhiều cá nhân chịu trách nhiệm tổ chức và quản lý mọi hoạt động liên quan trong việc triển khai một chương trình ngoại kiểm.

#### 1.2.2. Từ viết tắt

- EQA: Chương trình đánh giá chất lượng từ bên ngoài.(chương trình ngoại kiểm)

- HDSD: Hướng dẫn sử dụng

### **1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Các hoạt động cung cấp chương trình ngoại kiểm: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiết trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư**

#### 2.2.1. Nguyên vật liệu cơ bản cho sản xuất:

- Găng tay y tế

- Khẩu trang

- Ống 5-20 mL

- Hộp lưu mẫu lưu mẫu 80-100 vị trí chịu được nhiệt

- Ống ly tâm

- Màng lọc/Giấy lọc

- Đầu côn 100 $\mu$ L, 200 $\mu$ L, 1000 $\mu$ L
- Micropipet các loại: 10-1000 $\mu$ L
- Pipet phân chia
- Trợ pipet
- Nhãn in Barcode + mực
- Giấy lau phòng xét nghiệm
- Cồn 90%, 70%
- Ống lưu mẫu 2 mL có nắp xoáy chịu được nhiệt độ âm sâu
- Glycerol
- Dụng cụ nuôi cấy vi khuẩn (đèn cồn, que cấy...)
- Lam kính, lamên.
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

#### 2.2.2. Nguyên vật liệu đặc thù cho sản xuất:

- Chủng vi khuẩn chuẩn
- Môi trường tăng sinh: Nước pepton kiềm, canh thang Selenit cysteine, canh thang LB.
- Môi trường thạch đĩa chọn lọc cho vi khuẩn đường ruột: TCBS, SS(XLD), Endo, MC
- Các ống môi trường xác định tính chất sinh hóa (KIA, Manitol - Di động, Urease - Indol, LDC)
- Môi trường Basikov có đường Arabinose, Sucrose và Mannose
- Thuốc thử Kowac
- Thuốc thử Oxydase
- Parafin
- Kháng huyết thanh tả đặc hiệu đa giá *V. cholerae* O1 và O139 và đơn giá Ogawa và Inaba
- Kháng huyết thanh đặc hiệu *Salmonella*
- Kháng huyết thanh đặc hiệu *Shigella*
- Kháng huyết thanh đặc hiệu *E. coli*.
- Sinh phẩm PCR và các cặp mồi xác định gen đặc hiệu loài, gen độc lực ...

#### 2.2.3. Nguyên vật liệu cho đóng gói mẫu:

- Túi nilon có khóa
- Nilon chống va đập

- Hộp đựng carton đóng gói
- Băng dính
- Nhãn của bộ mẫu
- Mực in nhãn
- Mực in văn bản (Thông báo, công văn, hướng dẫn, báo cáo)
- Giấy A4
- Ghim giấy
- Túi bóng đục lỗ
- Khăn lau.

### **2.3. Thiết bị**

- Tủ lạnh -80 °C
- Tủ (2-8) °C
- Tủ an toàn sinh học cấp II
- Máy ủ nhiệt.
- Tủ ẩm
- Đèn cồn
- Máy khuấy từ, con từ
- Máy tính
- Máy in
- Máy in nhãn (barcode)
- Máy vortex
- Đồng hồ đo thời gian
- Máy ly tâm
- Kính hiển vi
- Nồi hấp
- Hệ thống máy xét nghiệm phù hợp với kỹ thuật thực hiện: máy ly tâm, máy ủ nhiệt, máy định danh vi khuẩn, máy tính bàn.

### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm**

Loại mẫu: Chủng vi khuẩn

### **2.5. Phiếu đăng ký tham gia**

Phiếu đăng ký tham gia chương trình ngoại kiểm đảm bảo đủ các thông tin cần thiết

### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Thời gian từ khi lập kế hoạch vòng đến khi ban hành báo cáo tổng hợp vòng ngoại



kiểm: 6 tháng

### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

- Mẫu được sản xuất, đánh giá tại phòng xét nghiệm.
- Nhập liệu, phân tích, báo cáo kết quả tại khu vực văn phòng.

### **3. AN TOÀN**

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học cấp II.

### **4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **4.1. Các bước thực hiện**

##### **4.1.1. Lập kế hoạch**

- Cán bộ có thẩm quyền sẽ thảo luận với các cán bộ tham gia thực hiện chương trình để thiết lập kế hoạch thực hiện trước khi lập kế hoạch.

- Kế hoạch năm được thiết lập đầu năm và được phê duyệt bởi người có thẩm quyền bao gồm:

- +Mục tiêu và loại mẫu sản xuất trong năm
- +Tiêu chí các đơn vị tham gia
- +Người chịu trách nhiệm
- +Tên và địa chỉ của người ký hợp đồng nếu có
- +Danh sách các đơn vị dự kiến tham gia
- +Số bộ mẫu cung cấp trong năm
- +Thời gian cho từng đợt cung cấp
- +Thẻ tích mẫu cần sử dụng
- +Các hướng dẫn và chi tiết thiết kế bộ mẫu

- Kế hoạch vòng ngoại kiểm: được xây dựng trước khi triển khai mỗi đợt cung cấp mẫu, bao gồm tối thiểu các nội dung:

- +Thiết kế mẫu
- + Khung thời gian cho quy trình
- + Thời hạn của chương trình
- + Thẻ tích và số lượng mẫu yêu cầu cho từng loại mẫu

##### **4.1.2. Đăng ký tham gia**

- Thông báo chương trình và Biểu mẫu đăng ký tham gia sẽ được gửi đến các đơn vị.

- Thu thập đăng ký và cập nhật vào danh sách tham gia, gán mã riêng biệt cho từng đơn vị.

- Kiểm tra lượng mẫu trong ngân hàng mẫu, nếu mẫu chưa có sẵn hoặc thiếu so

với lượng cần thì cần có kế hoạch bổ sung mẫu (thu thập hoặc mua mẫu).

- Soạn hợp đồng và gửi hợp đồng đến các đơn vị đăng ký tham gia, thương thảo và hoàn thiện các hợp đồng ngoại kiểm.

#### 4.1.3. Sản xuất mẫu

- Đầu năm/trước mỗi vòng, điều phối viên chương trình sẽ gửi kế hoạch sản xuất của năm và của từng vòng cho nhân viên quản lý ngân hàng mẫu để chủ động thu thập đủ lượng mẫu.

- Mẫu sử dụng trong chương trình là các chủng vi khuẩn chuẩn quốc tế được mua từ các nhà cung cấp sẽ được kiểm tra và cấy chuyển, và chia thành nhiều ống, cất vào tủ âm để đảm bảo đủ số lượng, sử dụng lâu dài.

- Sau khi nhận chủng, nhân viên quản lý ngân hàng mẫu phải lưu lại toàn bộ các hồ sơ liên quan.

- Ghi nhãn Tuýp chứa các thông tin sau: mã Tuýp mẫu, ngày chia mẫu.

- Mỗi chủng chuẩn chỉ được cấy chuyển tối đa 5 lần kể từ lần nhân giống đầu tiên và đều phải kiểm tra lại tính chất sinh hoá và độ thuần của chủng sau mỗi lần cấy chuyển.

- Các chủng chuẩn được xếp vào hộp lưu ở nhiệt độ phù hợp.

- Chủng chuẩn sau khi được xử lý đóng ống sẽ tạo thành mẫu ngoại kiểm. Có mẫu hỗn và mẫu đơn.

- Nhân viên quản lý ngân hàng mẫu cấp cho mỗi mẫu một mã số duy nhất. Nhân viên quản lý ngân hàng mẫu sẽ cập nhật thông tin mẫu vào file cơ sở dữ liệu.

- Định kỳ 3 tháng/lần sao lưu cơ sở dữ liệu của ngân hàng mẫu.

- Khi lấy mẫu ra khỏi ngân hàng, người sử dụng phải điền thông tin và trình điều phối viên hoặc QLKT phê duyệt.

- Khi muốn hủy mẫu, nhân viên quản lý ngân hàng mẫu sẽ điền hồ sơ và trình cho điều phối viên/QLKT phê duyệt. Việc hủy mẫu phải tuân thủ các quy định về an toàn sinh học.

##### a. Lựa chọn mẫu

- Sau khi tập hợp đủ thông tin về số lượng đơn vị tham gia mỗi vòng, QLKT/ Cán bộ điều phối tính toán tổng thể tích mẫu cho sản xuất bao gồm:

+lượng mẫu gửi đi (bảng thể tích mẫu x số đơn vị tham gia);

+lượng mẫu lưu và dự trữ trường hợp phải gửi lại mẫu cho đơn vị tham gia (khoảng 20% lượng mẫu gửi đi);

+lượng mẫu kiểm tra độ đồng nhất;

+lượng mẫu kiểm tra độ ổn định;

+lượng mẫu hao hụt trong quá trình sản xuất (35%).

- Đối chiếu với cơ sở dữ liệu của ngân hàng mẫu để lựa chọn các chủng vi khuẩn gây bệnh và không gây bệnh phù hợp cho mỗi lần sản xuất mẫu ngoại kiểm.

##### b. Chuẩn bị mẫu



- Lấy các chủng vi khuẩn đã lựa chọn ra khỏi tủ âm sâu, cấy chuyển sang môi trường dinh dưỡng. Kiểm tra đặc tính chủng.

- Tăng sinh mẫu trong canh thang LB

- Xác định lại đặc tính sinh vật hóa học của các chủng chuẩn vi khuẩn theo thường quy nuôi cấy định danh của phòng thí nghiệm Vi khuẩn đường ruột.

- Mã hóa danh sách chủng theo kế hoạch sản xuất của từng chương trình

- Các chủng vi khuẩn sau khi đã được kiểm tra, đáp ứng đủ điều kiện của kế hoạch sản xuất mẫu, tiến hành cấy chuyển sang các ống môi trường thạch mềm (môi trường thạch mềm được cho các ống cryoTuýp sấy tiệt trùng) để tạo bộ mẫu ngoại kiểm.

- Các mẫu sử dụng có thể là mẫu đơn hoặc mẫu trộn.

- Mẫu sau khi trộn đều sẽ được chia ra các ống thạch mềm với số lượng đã xác định trong kế hoạch vòng

- Lưu ý khi chuẩn bị mẫu phải tuân thủ các nguyên tắc sau:

+Thực hiện trong tủ an toàn sinh học;

+Tại mỗi thời điểm chỉ được chia một mẫu, để tránh nhầm lẫn giữa các mẫu.

- Để trong tủ ấm 37 °C/24h để kiểm tra khả năng mọc của vi khuẩn.

- Sau khi đủ thời gian, lấy các ống mẫu dán nhãn theo quy trình "Dán nhãn, đóng gói và vận chuyển mẫu Ngoại kiểm.

- Điền thông tin quá trình chuẩn bị mẫu vào biểu mẫu "Phiếu chia mẫu".

- Chọn một số mẫu để kiểm tra tính đồng nhất rồi thực hiện theo quy trình "Kiểm tra tính đồng nhất và ổn định".

- Chuyển các hộp này sang khu vực dán nhãn để dán nhãn cho mỗi Tuýp theo quy trình "Dán nhãn, đóng gói và vận chuyển mẫu Ngoại kiểm".

- Các bộ mẫu Ngoại kiểm dự phòng thay thế, các mẫu Ngoại kiểm dư lại sẽ được bảo quản ở nhiệt độ phù hợp đến hết thời gian phản hồi về báo cáo tổng hợp kết quả chương trình của các đơn vị.

- Ghi chép đầy đủ hồ sơ các bước thực hiện của các công đoạn đối với từng loại mẫu.

#### 4.1.4. Đánh giá chất lượng mẫu

##### c. Đánh giá độ đồng nhất

- Lựa chọn ngẫu nhiên tối thiểu 10 ống của mỗi mẫu để kiểm tra độ đồng nhất

- Sau đó thực hiện để xét nghiệm với các ống đã lựa chọn. Mỗi mẫu sẽ được lặp lại 2 lần.

- Tiêu chuẩn đánh giá độ đồng nhất: Các mẫu được coi là đồng nhất nếu kết quả của tất cả các lọ chia từ cùng 1 mẫu đều cho kết quả tương đồng. Nếu mẫu không đồng nhất, loại bỏ các Tuýp đã chia và sản xuất lại.

##### d. Đánh giá tính ổn định

- Mỗi vòng, chọn tối thiểu 2 bộ mẫu gửi đến những đơn vị ở xa nhất (hoặc vận



chuyển khó khăn nhất) để kiểm tra độ ổn định.

- Hướng dẫn cho đơn vị tham gia khi nhận các mẫu đánh giá độ ổn định
- Tiếp nhận các mẫu đánh giá độ ổn định để thực hiện đánh giá.
- Tương ứng với đó để làm đối chứng, số lượng bộ mẫu tương tự được lưu tại phòng xét nghiệm của Chương trình trong điều kiện bảo quản quy định của bộ mẫu.
- Sau ngày đóng vòng, các bộ mẫu sẽ cùng được thực hiện xét nghiệm để đánh giá tính ổn định.

- Tiêu chuẩn đánh giá tính ổn định: Kết quả xét nghiệm (định tính) của các bộ mẫu phải tương đồng. Nếu kết quả không tương đồng tức là bộ mẫu không ổn định thì sẽ không tiến hành phân tích kết quả của vòng Ngoại kiểm đó.

- Chuyển các hộp này sang khu vực dán nhãn để dán nhãn cho mỗi Tuýp .
- Các bộ mẫu Ngoại kiểm dự phòng thay thế, các mẫu Ngoại kiểm dư lại sẽ được bảo quản ở nhiệt độ phù hợp đến hết thời gian phản hồi về báo cáo tổng hợp kết quả chương trình của các đơn vị.

#### 4.1.5. Đóng gói mẫu

- Công văn thông báo việc gửi mẫu sẽ được gửi đến các phòng thí nghiệm thành viên ít nhất một tuần trước khi gửi mẫu panel.
- Mẫu sau khi được chia ra ống sẽ được phân chia và dán nhãn theo mã hóa mẫu được quy định.
- Đậy nắp ống nghiệm, kiểm tra độ khít của nắp ống nghiệm sau khi đóng.
- Nêu chi tiết cách mẫu được đóng vào hộp, cách kiểm soát chất lượng khi đóng gói.
- Đóng gói mẫu cùng với công văn thông báo, hướng dẫn bộ mẫu và biểu mẫu hướng dẫn nhập kết quả. Tất cả được bỏ vào phong bì có dán sẵn địa chỉ nơi nhận và nơi gửi.

#### 4.1.6. Gửi mẫu đến các đơn vị

- Sau khi hoàn tất toàn bộ mẫu và biểu mẫu được đóng gói trong phong bì thì cán bộ được phân công sẽ đánh dấu vào danh sách gửi mẫu và đối chiếu tên đơn vị nhận với danh sách gửi mẫu.

- Bộ mẫu được gửi kèm với hướng dẫn sử dụng bộ mẫu.
- Đóng các biểu tượng an toàn sinh học lên phong bì gửi mẫu.
- Đối soát với bên vận chuyển và chốt số lượng

#### 4.1.7. Tiếp nhận kết quả của các đơn vị tham gia

- Các đơn vị thực hiện xét nghiệm theo đúng hướng dẫn của nhà cung cấp, nhập các kết quả phản hồi cho chương trình ngoại kiểm. Cán bộ của chương trình ngoại kiểm tiếp nhận và xác nhận kết quả của các đơn vị tham gia gửi về.

#### 4.1.8. Nhập và kiểm tra dữ liệu

- Cán bộ chương trình nhận báo cáo từ các đơn vị tham gia, kiểm tra báo cáo điền

thông tin nhận mẫu và nhập dữ liệu (nhập 2 lần).

- Sau khi kết thúc nhập liệu, QLCL/QLKT kiểm tra dữ liệu đã nhập và báo cáo của các đơn vị.

- Kiểm tra kết quả của đơn vị và liên hệ, hỗ trợ đơn vị tham gia nhận ra sự không phù hợp, điều tra nguyên nhân gốc rễ.

#### 4.1.9. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm

- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.

- Tuân thủ các nguyên tắc khử nhiễm và xử lý chất thải phòng xét nghiệm theo Sổ tay An toàn của đơn vị.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Sau khi kết thúc ngày phản hồi kết quả của các đơn vị, gửi báo cáo sơ bộ cho các đơn vị tham gia.

- Cán bộ được phân công tiến hành phân tích dữ liệu theo các đầu mục yêu cầu.

- Liệt kê các chi số sẽ đưa vào báo cáo phản hồi cho các đơn vị.

- Nêu các cách đánh giá kết quả phù hợp và không phù hợp với các sinh phẩm sử dụng và với từng loại mẫu cụ thể.

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

##### 4.3.1. Báo cáo sơ bộ

- QLKT và Điều phối viên tổng hợp và soạn thảo báo cáo sơ bộ, Lãnh đạo đơn vị phê duyệt báo cáo sơ bộ.

- Sau khi kết thúc ngày phản hồi kết quả của các đơn vị, trong vòng 1 tháng báo cáo sơ bộ về kết quả của chương trình được gửi đến các đơn vị tham gia (nếu cần).

##### 4.3.2. Báo cáo kết quả

- Điều phối viên và QLKT sẽ chuẩn bị các bản báo cáo cuối cùng bao gồm báo cáo theo từng đơn vị ("Báo cáo kết quả Ngoại kiểm") và báo cáo cho toàn bộ các đơn vị tham gia ("Báo cáo tổng hợp chương trình Ngoại kiểm") để tóm tắt toàn bộ thông tin về vòng Ngoại kiểm và kết quả thực hiện của các đơn vị tham gia.

- Điều phối viên gửi bản báo cáo cho các chuyên gia tư vấn để góp ý (qua email). Các góp ý của chuyên gia tư vấn sẽ được cán bộ điều phối và QLKT xem xét và chỉnh sửa, bổ sung nếu phù hợp.

- Sau khi hoàn tất, Lãnh đơn vị sẽ phê duyệt các bản báo cáo này cùng với chứng chỉ tham gia chương trình.

- Nhân viên chương trình sẽ gửi cho đơn vị tham gia qua email, bưu điện và điền hồ sơ "Phiếu theo dõi trả kết quả Ngoại kiểm".

- Mọi phản hồi từ các đơn vị tham gia sau khi nhận được báo cáo sẽ được nhân viên chương trình tiếp nhận, tổng hợp và xử lý.

- Trường hợp phát hiện sai sót trong các bản báo cáo đã ban hành, chương trình



phải có thông báo hết hiệu lực của các bản báo cáo cũ và thu hồi lại (nếu có thể) trước khi sửa đổi và ban hành bản báo cáo mới. Bản báo cáo sửa đổi phải có mã số riêng, viện dẫn tới báo cáo gốc, ghi rõ đây là báo cáo sửa đổi và lý do sửa đổi.

- Các báo cáo kết quả được gửi đến các đơn vị tham gia bao gồm:

+Báo cáo tổng hợp

+Báo cáo từng phòng

+Chứng nhận tham gia chương trình.

#### 4.3.3. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1.	Phiếu đăng ký tham gia chương trình
2.	Kế hoạch năm, kế hoạch vòng ngoại kiểm
3.	Báo cáo sơ bộ
4.	Báo cáo từng phòng
5.	Báo cáo tổng hợp
6.	Chứng nhận tham gia chương trình

#### 4.3.4. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm.

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

- Mẫu dùng để sản xuất không đủ số lượng và chất lượng.

- Sinh phẩm bị nhiễm.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Mẫu không đạt yêu cầu về độ đồng nhất và ổn định.

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Phân tích kết quả: Sai số trong nhập liệu, nhầm lẫn hoặc thiếu thông tin trong báo cáo của đơn vị tham gia....

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Các kỹ thuật xét nghiệm khi thực hiện tuân thủ theo đúng quy định kiểm soát chất lượng của từng kỹ thuật thực hiện.

- Độ đồng nhất đạt yêu cầu mới gửi mẫu cho các đơn vị tham gia

- Các nguyên vật liệu trước khi đưa vào sử dụng cần được kiểm tra chất lượng.



- Các trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ và trong thời hạn hiệu chuẩn.
- Điều kiện môi trường của PTN phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- TCVN ISO/IEC 17043:2011, Đánh giá sự phù hợp – Yêu cầu chung đối với thử nghiệm thành thạo.
- ISO/IEC 17043:2023, Conformity assessment - General requirements for the competence of proficiency testing providers.
- ISO 13528: 2015: Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 262:**  
**CUNG CẤP CHƯƠNG TRÌNH SO SÁNH LIÊN PHÒNG (PT)**  
**XÉT NGHIỆM ĐẾM TẾ BÀO LT-CD4/CD8**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Hướng dẫn các bước chuẩn bị bộ mẫu chuẩn thử nghiệm thành thạo cho xét nghiệm đếm tế bào LT-CD4/CD8 và tổ chức thực hiện chương trình.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Không áp dụng

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

PT: Proficiency testing – Chương trình thử nghiệm thành thạo

### **1.3. Nguyên lý**

- Bộ mẫu chuẩn gồm 2 mẫu với mức nồng độ tế bào LT-CD4 bình thường và thấp sẽ được gửi đến các PXN tham gia chương trình

- Đánh giá kết quả dựa trên kết quả nhóm tham chiếu hoặc tham chiếu theo kết quả xác định đặc tính mẫu từ Phòng xét nghiệm đạt chuẩn của đơn vị tổ chức chương trình

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Thu thập, cố định mẫu, chuẩn bị bộ panel, đóng gói, vận chuyển mẫu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Lập kế hoạch, đầu mối liên hệ, xác định đặc tính mẫu, đánh giá đồng nhất mẫu, nhận kết quả và phân tích: Trình độ sau đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương

- Giám sát, điều phối toàn bộ nguồn lực – hoạt động, đánh giá kết quả tổng hợp, xử lý các tình huống phát sinh trong quá trình tổ chức thực hiện, đảm bảo chất lượng cho chương trình: Trình độ sau đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư:**

#### **2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

- Hỗn hợp kháng thể đơn dòng 4 màu huỳnh quang CD3/CD8/CD45/CD4

- Dung dịch ly giải hồng cầu

- Chất hiệu chuẩn máy

- Dung dịch đệm chạy mẫu
- Dung dịch rửa máy
- Mẫu nội kiểm
- Hóa chất xét nghiệm Công thức máu
- Hóa chất ổn định tế bào

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Ống chứa hạt tham chiếu cho xét nghiệm định lượng tế bào bạch cầu
- Ống vô trùng, nắp vận chứa mẫu - 2 mL
- Ống 5 mL dùng chạy máy Flow cytometry
- Ống 50 mL, vô trùng
- Ống chân không EDTA 10 mL
- Bình đựng chất hải
- Kim bấm G21
- Dây garo
- Bông cotton lấy mẫu
- Thùng vận chuyển có đá gel, được dán nhãn nguy hiểm
- khay đựng ống mẫu
- Đầu côn (típ) 100  $\mu$ L
- Đầu côn (típ) 1000  $\mu$ L
- Găng tay không bột, khẩu trang,
- Giấy thấm không sợi
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

#### 2.3. Thiết bị

- Máy xét nghiệm huyết học
- Hệ thống máy đo dòng chảy tế bào ít nhất 4 màu
- Máy ly tâm tốc độ cao
- Pipette
- Tủ an toàn sinh học cấp II
- Máy lắc
- Máy vortex
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.



#### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có

Máu toàn phần được chống đông bằng EDTA với thể tích phù hợp với bộ mẫu sản xuất và đánh giá chất lượng.

#### 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm nếu có

Không áp dụng

#### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng

#### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm/đơn vị tổ chức chương trình thử nghiệm độ thành thạo

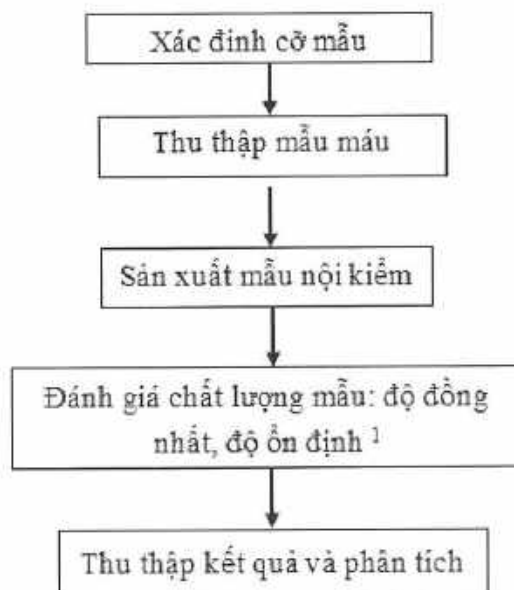
### 3. AN TOÀN

- Thao tác kỹ thuật tiến hành trong tủ thiết kế chuyên dùng.
- Có thể đeo kính khi tiến hành thử nghiệm.
- Có thể đeo 2 găng tay khi mở nắp Tuýp .
- Thao tác hút nhà đầu côn nhẹ nhàng.

### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 4.1. Các bước thực hiện:

Bộ mẫu bao gồm 2 mức nồng độ thấp và bình thường, mỗi mẫu chứa 500 µl máu toàn phần. Quy trình chuẩn bị được tiến hành theo sơ đồ sau:



<sup>1</sup>: Các chỉ tiêu đánh giá chất lượng bộ mẫu với mỗi chỉ tiêu lấy ngẫu nhiên 10% trên tổng số bộ trong mỗi mẻ sản xuất của một lô sản xuất (tối thiểu 10 bộ mẫu).

#### 4.2. Nhận định kết quả

Số lượng tế bào lympho T-CD4 tuyệt đối trong các mẫu máu được tính theo công thức sau: Số lượng T-CD4 (tế bào/µl) = (% T-CD4 × tổng số tế bào lympho)/(100%)

#### 4.2.1 Đánh giá độ đồng nhất

Mẫu được đánh giá đồng nhất khi hệ số biến thiên của kết quả  $CV\% < 0,25 * TEa$   
 $= 6,25\%$  (với  $TEa = 25\%$ )

#### 4.2.2 Đánh giá độ ổn định

Mẫu được đánh giá ổn định khi hệ số biến thiên của kết quả thấp  $CV < 0,33 * TEa$   
 $= 8,25\%$  (với  $TEa = 25\%$ )

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Ghi chép vào sổ và các biểu mẫu liên quan đến quy trình và lưu trữ hồ sơ.

#### 4.3.1. Trả kết quả

Không áp dụng

#### 4.3.2. Phụ lục/biểu mẫu

Không áp dụng

#### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

Ghi chép vào sổ và các biểu mẫu liên quan đến quy trình và lưu trữ hồ sơ.

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Toàn bộ các thao tác chuẩn bị mẫu và chuẩn độ mẫu cần thực hiện trong tủ cấy an toàn sinh học.

- Lắc đều ống máu trước khi thực hiện.

- Không sử dụng máu đã đông, tán huyết.

- Mẫu cần được xử lý ngay trong vòng 48 giờ.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm chất lượng

- Chuẩn máy được thực hiện 1 tuần/lần. Hoặc khi chạy máy đột xuất bằng ống bi chuẩn.

- Chạy mẫu nội kiểm trước khi tiến hành đo mẫu.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

Phòng xét nghiệm xác định đặc tính mẫu và đánh giá đồng nhất mẫu của chương trình phải tham gia tối thiểu 01 chương trình ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng cho chỉ tiêu triển khai chương trình thử nghiệm độ thành thạo.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Quy trình xác định tế bào lympho TCD4/TCD8 trên hệ thống máy Faescanto II

- Bộ KH & CN TCVN ISO/IEC 17043:2011 - ISO/IEC 17043:2010 (2011), Đánh giá sự phù hợp - yêu cầu chung đối với thử nghiệm thành thạo.

- Bộ KH & CN TCVN 8245:2009 - ISO Guide 35:2006 (2009), Mẫu chuẩn - nguyên tắc chung và nguyên tắc thống kê trong chứng nhận.

- Xét nghiệm đếm tế bào lympho T CD4 trong điều trị HIV/AIDS – Bộ Y tế.

- Quyết định 1099/QĐ-BYT: Quy định điều kiện thực hiện và quản lý chất lượng xét nghiệm đếm tế bào T-CD4.
- The Harriet Lane Handbook, The Johns Hopkins Hospital, fifteenth edition, George K. Siberry and Robert Iannone, chapter 16, page 341, table 16.6, for Pediatric CD4/CD8 reference ranges.
- Textbook of Hematology, Shirlyn B. McKenzie, 2nd Edition, 1996, Table N, page 702.
- ISO 13528:2022 - Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 263:**  
**CUNG CẤP CHƯƠNG TRÌNH SO SÁNH LIÊN PHÒNG (PT)**  
**CHO XÉT NGHIỆM ĐỊNH TÍNH HBsAg**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Hướng dẫn quy trình chuẩn bị bộ mẫu chuẩn cho chương trình thử nghiệm thành thạo xét nghiệm định tính HBsAg và tổ chức thực hiện chương trình.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Không áp dụng

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

Không áp dụng

### **1.3. Nguyên lý**

- Bộ mẫu chuẩn gồm 8 mẫu, bao gồm mẫu dương tính và âm tính, sẽ được gửi đến các PXN tham gia chương trình

- Đánh giá kết quả dựa trên kết quả tương đồng nhóm phương pháp hoặc tham chiếu theo kết quả xác định đặc tính mẫu từ Phòng xét nghiệm đạt chuẩn của đơn vị tổ chức chương trình

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Thu thập, cố định mẫu, chuẩn bị bộ panel, đóng gói, vận chuyển mẫu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Lập kế hoạch, đầu mối liên hệ, xác định đặc tính mẫu, đánh giá đồng nhất mẫu, nhận kết quả và phân tích: Trình độ sau đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương

- Giám sát, điều phối toàn bộ nguồn lực – hoạt động, đánh giá kết quả tổng hợp, xử lý các tình huống phát sinh trong quá trình tổ chức thực hiện, đảm bảo chất lượng cho chương trình: Trình độ sau đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn

### **2.2. Vật tư:**

#### **2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm HBsAg đi kèm vật tư theo Sinh phẩm trên máy 1

- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm HBsAg đi kèm vật tư theo Sinh phẩm trên máy 2

- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm HBsAg đi kèm vật tư theo Sinh phẩm trên máy 3

- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm kháng định HBsAg

- Thạch MH chứa 5% máu cừu

- Thạch sabouraud

- Proclin

- Huyết tương đông lạnh

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Nhân chịu nhiệt chuyên dụng

- Cryotúyp 2 mL vô trùng

- Túyp 50 mL dùng đóng gói mẫu

- Hộp giấy 8 vị trí

- Kim bướm 21G

- Túyp nắp bột

- Thùng vận chuyển mẫu lạnh

- Túi lấy máu có chất chống đông

- Khẩu trang y tế

- Găng tay không bột các cỡ

- Dung dịch sát khuẩn tay

- Giấy thấm, bông cotton...

- Trang bị bảo hộ cá nhân

- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN

- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

### 2.3. Thiết bị

- Máy ly tâm lạnh

- Tủ -20 °C

- Tủ ấm

- Tủ an toàn sinh học cấp II

- Micropipet

- Máy lắc

- Máy khuấy từ

- Máy vortex

- 3 hệ thống máy miễn dịch tự động khác nhau

**2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có**

Các túi huyết tương đã được xác định rõ đặc tính mẫu.

**2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm nếu có**

Không áp dụng

**2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Không áp dụng

**2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Phòng xét nghiệm/Đơn vị tổ chức thực hiện chương trình thử nghiệm thành thạo

**3. AN TOÀN**

- Thao tác kỹ thuật tiến hành trong tủ thiết kế chuyên dùng.
- Có thể đeo kính khi tiến hành thử nghiệm.
- Có thể đeo 2 găng tay khi mở nắp Tuýp.
- Thao tác hút nhà đầu côn nhẹ nhàng.

**4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**4.1. Các bước thực hiện:**

Bộ panel bao gồm 8 mẫu (3 âm, 5 dương), mỗi mẫu 500  $\mu$ L huyết thanh được chuẩn bị theo sơ đồ sau:

<sup>1</sup>: Các chỉ tiêu đánh giá chất lượng bộ mẫu với mỗi chỉ tiêu lấy ngẫu nhiên 10% trên tổng số bộ trong mỗi mẻ sản xuất của một lô sản xuất (tối thiểu 10 bộ mẫu).





## 4.2. Nhận định kết quả

### 4.2.1. Kiểm tra đặc tính mẫu

- Kết quả xác định đặc tính mẫu dựa vào chỉ số S/CO, nếu  $S/CO < 1,0$  cho kết quả âm tính và  $S/CO \geq 1,0$  cho kết quả dương tính. S/CO là giá trị của mẫu thử so với ngưỡng giới hạn cho phép. Đây là chỉ số để phân biệt giữa âm tính và dương tính.

- Các mẫu dương tính được khẳng định lại bằng test khẳng định

### 4.2.2. Đánh giá độ đồng nhất

Mẫu được đánh giá đồng nhất khi so sánh bằng phương pháp phân tích phương sai one way ANOVA xem có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% hay không.

### 4.2.3. Đánh giá độ ổn định

Mẫu được đánh giá độ ổn định cao khi độ phân tán kết quả thấp ( $CV\% < 10\%$ ) và đặc tính âm, dương không thay đổi khi so sánh với điểm cắt của sinh phẩm.

### 4.2.4 Kiểm tra tính vô khuẩn

Mẫu được cấy trên thạch MH 5% máu cừu và thạch sabouraud có chứa cloramphenicol để kiểm tra khả năng nhiễm khuẩn, nấm.

## 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Ghi chép vào sổ và các biểu mẫu liên quan đến quy trình và lưu trữ hồ sơ.

### 4.3.1. Trả kết quả

Không áp dụng

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Không áp dụng

#### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

Ghi chép vào sổ và các biểu mẫu liên quan đến quy trình và lưu trữ hồ sơ.

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Toàn bộ các thao tác chuẩn bị mẫu và chuẩn độ mẫu cần thực hiện trong tủ cấy an toàn sinh học.

- Lắc đều ống máu trước khi thực hiện.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Nội kiểm chất lượng

Chạy mẫu nội kiểm trước khi tiến hành đo mẫu.

#### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

Phòng xét nghiệm xác định đặc tính mẫu và đánh giá đồng nhất mẫu của chương trình phải tham gia tối thiểu 01 chương trình ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng cho chỉ tiêu triển khai chương trình thử nghiệm độ thành thạo.

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ KH & CN TCVN ISO/IEC 17043:2011 - ISO/IEC 17043:2010 (2011), Đánh giá sự phù hợp - yêu cầu chung đối với thử nghiệm thành thạo.

- Bộ KH & CN TCVN 8245:2009 - ISO Guide 35:2006 (2009), Mẫu chuẩn - nguyên tắc chung và nguyên tắc thống kê trong chứng nhận.

- ISO 13528:2022 - Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 264:**  
**CUNG CẤP CHƯƠNG TRÌNH SO SÁNH LIÊN PHÒNG (PT)**  
**CHO XÉT NGHIỆM ĐỊNH TÍNH ANTI-HCV**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Hướng dẫn quy trình chuẩn bị bộ mẫu chuẩn cho thử nghiệm thành thạo xét nghiệm định tính Anti-HCV và tổ chức thực hiện chương trình.

### **1.2. Định nghĩa**

1.2.1. Giải thích từ ngữ

Không áp dụng

1.2.2. Từ viết tắt

PT: Proficiency testing – Chương trình thử nghiệm thành thạo

### **1.3. Nguyên lý**

- Bộ mẫu chuẩn gồm 8 mẫu, bao gồm mẫu dương tính và âm tính, sẽ được gửi đến các PXN tham gia chương trình

- Đánh giá kết quả dựa trên kết quả tương đồng nhóm phương pháp hoặc tham chiếu theo kết quả xác định đặc tính mẫu từ Phòng xét nghiệm đạt chuẩn của đơn vị tổ chức chương trình.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Thu thập, cố định mẫu, chuẩn bị bộ panel, đóng gói, vận chuyển mẫu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Lập kế hoạch, đầu mối liên hệ, xác định đặc tính mẫu, đánh giá đồng nhất mẫu, nhận kết quả và phân tích: Trình độ sau đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương

- Giám sát, điều phối toàn bộ nguồn lực – hoạt động, đánh giá kết quả tổng hợp, xử lý các tình huống phát sinh trong quá trình tổ chức thực hiện, đảm bảo chất lượng cho chương trình: Trình độ sau đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư**

2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm Anti HCV đi kèm vật tư theo Sinh phẩm trên máy 1



- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm Anti HCV đi kèm vật tư theo Sinh phẩm trên máy 2

- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm Anti HCV đi kèm vật tư theo Sinh phẩm trên máy 3

- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm kháng định Anti HCV

- Thạch MH chứa 5% máu cừu

- Thạch sabouraud

- Proclin

- Huyết tương đông lạnh

#### 7.1.1. Vật tư tiêu hao

- Nhân chịu nhiệt chuyên dụng

- Cryotúyp 2 mL vô trùng

- Túyp 50 mL dùng đóng gói mẫu

- Hộp giấy 8 vị trí

- Kim bướm 21G

- Túyp nắp bật

- Thùng vận chuyển mẫu lạnh

- Túi lấy máu có chất chống đông

- Khẩu trang y tế

- Găng tay không bột các cỡ

- Dung dịch sát khuẩn tay

- Giấy thấm, bông cồn...

- Trang bị bảo hộ cá nhân

- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN

- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

### 2.3. Thiết bị

- Máy ly tâm lạnh

- Tủ -20 °C

- Tủ ấm

- Tủ an toàn sinh học cấp II

- Pipette

- Máy lắc

- Máy khuấy từ

- Máy vortex

- 3 hệ thống máy miễn dịch tự động khác nhau

#### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có

Các túi huyết tương đã được xác định rõ đặc tính mẫu.

#### 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm nếu có

Không áp dụng

#### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng

#### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm/Đơn vị tổ chức thực hiện chương trình thử nghiệm thành thạo

### 3. AN TOÀN

- Thao tác kỹ thuật tiến hành trong tủ thiết kế chuyên dùng.
- Có thể đeo kính khi tiến hành thử nghiệm.
- Có thể đeo 2 găng tay khi mở nắp Tuýp.
- Thao tác hút nhà đầu côn nhẹ nhàng.

### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 4.1. Các bước thực hiện:

Bộ panel bao gồm 8 mẫu (3 âm, 5 dương), mỗi mẫu 500  $\mu$ l huyết thanh được chuẩn bị theo sơ đồ sau:



<sup>1</sup>: Các chỉ tiêu đánh giá chất lượng bộ mẫu với mỗi chỉ tiêu lấy ngẫu nhiên 10% trên tổng số bộ trong mỗi mẻ sản xuất của một lô sản xuất (tối thiểu 10 bộ mẫu).

## 4.2. Nhận định kết quả

### 4.2.1. Kiểm tra đặc tính mẫu

Kết quả xác định đặc tính mẫu dựa vào chỉ số S/CO, nếu  $S/CO < 1,0$  cho kết quả âm tính và  $S/CO \geq 1,0$  cho kết quả dương tính. S/CO là giá trị của mẫu thử so với ngưỡng giới hạn cho phép. Đây là chỉ số để phân biệt giữa âm tính và dương tính.

Các mẫu dương tính được khẳng định lại bằng test khẳng định

### 4.2.2. Đánh giá độ đồng nhất

Mẫu được đánh giá đồng nhất khi so sánh bằng phương pháp phân tích phương sai one way ANOVA xem có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% hay không.

### 4.2.3. Đánh giá độ ổn định

Mẫu được đánh giá độ ổn định cao khi độ phân tán kết quả thấp ( $CV\% < 10\%$ ) và đặc tính âm, dương không thay đổi khi so sánh với điểm cắt của sinh phẩm.

### 4.2.4. Kiểm tra tính vô khuẩn

Mẫu được cấy trên thạch MH 5% máu cừu và thạch sabouraud có chứa cloramphenicol để kiểm tra khả năng nhiễm khuẩn, nấm.

## 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Ghi chép vào sổ và các biểu mẫu liên quan đến quy trình và lưu trữ hồ sơ.

### 4.3.1. Trả kết quả

Không áp dụng

### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Không áp dụng

### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

Ghi chép vào sổ và các biểu mẫu liên quan đến quy trình và lưu trữ hồ sơ.

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Toàn bộ các thao tác chuẩn bị mẫu và chuẩn độ mẫu cần thực hiện trong tủ cấy an toàn sinh học.

- Lắc đều ống máu trước khi thực hiện.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm chất lượng

- Chạy mẫu nội kiểm trước khi tiến hành đo mẫu.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

Phòng xét nghiệm xác định đặc tính mẫu và đánh giá đồng nhất mẫu của chương trình phải tham gia tối thiểu 01 chương trình ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng cho chỉ tiêu triển khai chương trình thử nghiệm độ thành thạo.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ KH & CN TCVN ISO/IEC 17043:2011 - ISO/IEC 17043:2010 (2011), Đánh



giá sự phù hợp - yêu cầu chung đối với thử nghiệm thành thạo.

- Bộ KH & CN TCVN 8245:2009 - ISO Guide 35:2006 (2009), Mẫu chuẩn - nguyên tắc chung và nguyên tắc thống kê trong chứng nhận.

- ISO 13528:2022 - Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 265:**  
**CUNG CẤP CHƯƠNG TRÌNH SO SÁNH LIÊN PHÒNG (PT) ĐỒNG THỜI**  
**CHO XÉT NGHIỆM ĐỊNH TÍNH HBSAG VÀ ANTI-HCV**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Hướng dẫn quy trình chuẩn bị bộ mẫu chuẩn cho thử nghiệm thành thạo đồng thời xét nghiệm định tính HBsAg và Anti-HCV và tổ chức triển khai chương trình

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Không áp dụng

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

PT: Proficiency testing – Chương trình thử nghiệm thành thạo

### **1.3. Nguyên lý**

- Bộ mẫu chuẩn gồm 8 mẫu, bao gồm mẫu dương tính và âm tính, sẽ được gửi đến các PXN tham gia chương trình

- Đánh giá kết quả dựa trên kết quả tương đồng nhóm phương pháp hoặc tham chiếu theo kết quả xác định đặc tính mẫu từ Phòng xét nghiệm đạt chuẩn của đơn vị tổ chức chương trình

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Thu thập, cố định mẫu, chuẩn bị bộ panel, đóng gói, vận chuyển mẫu: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Lập kế hoạch, đầu mối liên hệ, xác định đặc tính mẫu, đánh giá đồng nhất mẫu, nhận kết quả và phân tích: Trình độ sau đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương

- Giám sát, điều phối toàn bộ nguồn lực – hoạt động, đánh giá kết quả tổng hợp, xử lý các tình huống phát sinh trong quá trình tổ chức thực hiện, đảm bảo chất lượng cho chương trình: Trình độ sau đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương

- Tiết trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư:**

#### **2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm HBsAg đi kèm vật tư theo Sinh phẩm trên máy 1

- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm HBsAg đi kèm vật tư theo Sinh phẩm trên máy 2
- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm HBsAg đi kèm vật tư theo Sinh phẩm trên máy 3
- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm kháng định HBsAg
- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm Anti HCV đi kèm vật tư theo Sinh phẩm trên máy 1
- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm Anti HCV đi kèm vật tư theo Sinh phẩm trên máy 2
- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm Anti HCV đi kèm vật tư theo Sinh phẩm trên máy 3

- Sinh phẩm xét nghiệm xét nghiệm kháng định Anti HCV
- Thạch MH chứa 5% máu cừu
- Thạch sabouraud
- Proclin
- Huyết tương đông lạnh

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Nhãn chịu nhiệt chuyên dụng
- Cryotúyp 2 mL vô trùng
- Túyp 50 mL dùng đóng gói mẫu
- Hộp giấy 8 vị trí
- Kim bướm 21G
- Túyp nắp bật
- Thùng vận chuyển mẫu lạnh
- Túi lấy máu có chất chống đông
- Khẩu trang y tế
- Găng tay không bột các cỡ
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Giấy thấm, bông cồn...
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

#### 2.3. Thiết bị

- Máy ly tâm lạnh
- Tủ -20 °C



- Tủ ẩm
- Tủ an toàn sinh học cấp II
- Micropipet:
- Máy lắc
- Máy khuấy từ
- Máy vortex
- 3 hệ thống máy miễn dịch tự động khác nhau

#### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có**

Các túi huyết tương đã được xác định rõ đặc tính mẫu.

#### **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm nếu có**

Không áp dụng

#### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Không áp dụng

#### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Phòng xét nghiệm/Đơn vị tổ chức thực hiện chương trình thử nghiệm thành thạo

### **3. AN TOÀN**

- Thao tác kỹ thuật tiến hành trong tủ thiết kế chuyên dùng.
- Có thể đeo kính khi tiến hành thử nghiệm.
- Có thể đeo 2 găng tay khi mở nắp Tuýp .
- Thao tác hút nhà đầu côn nhẹ nhàng.

### **4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **4.1. Các bước thực hiện:**

Bộ panel bao gồm 8 mẫu (3 âm, 5 dương), mỗi mẫu 500 µl huyết thanh được chuẩn bị theo sơ đồ sau:



<sup>1</sup>: Các chỉ tiêu đánh giá chất lượng bộ mẫu với mỗi chỉ tiêu lấy ngẫu nhiên 10% trên tổng số bộ trong mỗi mẻ sản xuất của một lô sản xuất (tối thiểu 10 bộ mẫu).

## 4.2. Nhận định kết quả

### 4.2.1. Kiểm tra đặc tính mẫu

- Kết quả xác định đặc tính mẫu dựa vào chỉ số S/CO, nếu  $S/CO < 1,0$  cho kết quả âm tính và  $S/CO \geq 1,0$  cho kết quả dương tính. S/CO là giá trị của mẫu thử so với ngưỡng giới hạn cho phép. Đây là chỉ số để phân biệt giữa âm tính và dương tính.

- Các mẫu dương tính được khẳng định lại bằng test khẳng định

### 4.2.2. Đánh giá độ đồng nhất

Mẫu được đánh giá đồng nhất khi so sánh bằng phương pháp phân tích phương sai one way ANOVA xem có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% hay không.

### 4.2.3. Đánh giá độ ổn định

Mẫu được đánh giá độ ổn định cao khi độ phân tán kết quả thấp ( $CV\% < 10\%$ ) và đặc tính âm, dương không thay đổi khi so sánh với điểm cắt của sinh phẩm.

### 4.2.4. Kiểm tra tính vô khuẩn

Mẫu được cấy trên thạch MH 5% máu cừu và thạch sabouraud có chứa cloramphenicol để kiểm tra khả năng nhiễm khuẩn, nấm.

## 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Ghi chép vào sổ và các biểu mẫu liên quan đến quy trình và lưu trữ hồ sơ.

### 4.3.1. Trả kết quả

Không áp dụng

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Không áp dụng

#### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

Ghi chép vào sổ và các biểu mẫu liên quan đến quy trình và lưu trữ hồ sơ.

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Toàn bộ các thao tác chuẩn bị mẫu và chuẩn độ mẫu cần thực hiện trong tủ cấy an toàn sinh học.

- Lắc đều ống máu trước khi thực hiện.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Nội kiểm chất lượng

- Chạy mẫu nội kiểm trước khi tiến hành đo mẫu.

#### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

Phòng xét nghiệm xác định đặc tính mẫu và đánh giá đồng nhất mẫu của chương trình phải tham gia tối thiểu 01 chương trình ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng cho chỉ tiêu triển khai chương trình thử nghiệm độ thành thạo.

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ KH & CN TCVN ISO/IEC 17043:2011 - ISO/IEC 17043:2010 (2011), Đánh giá sự phù hợp - yêu cầu chung đối với thử nghiệm thành thạo.

- Bộ KH & CN TCVN 8245:2009 - ISO Guide 35:2006 (2009), Mẫu chuẩn - nguyên tắc chung và nguyên tắc thống kê trong chứng nhận.

- ISO 13528:2022 - Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 266:  
**HIỆU CHUẨN MICROPIPET**

## 1. ĐẠI CƯƠNG

### 1.1. Mục đích

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện, điều kiện hiệu chuẩn, trình tự, tính toán xử lý kết quả hiệu chuẩn micropipet nhằm đảm bảo việc hiệu chuẩn luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

### 1.2. Định nghĩa

#### 1.2.1. Giải thích từ ngữ

Khối lượng quy ước: giá trị quy ước của kết quả cân trong không khí. Khối lượng quy ước là khối lượng của quả cân chuẩn có khối lượng riêng  $8.000 \text{ kg/m}^3$  được cân trong không khí tại  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  có khối lượng riêng  $1,2 \text{ kg/m}^3$ .

#### 1.2.2. Từ viết tắt

- KĐBĐ: Không đảm bảo đo
- Min: Giá trị thấp nhất
- Max: Giá trị cao nhất

### 1.3. Nguyên lý

Nguyên lý của việc hiệu chuẩn micropipet (dung tích) thông qua chuẩn khối lượng của lượng nước cất mà micropipet đó hút được, từ đó xác định các sai số ngẫu nhiên, sai số hệ thống, đồng thời công bố độ không đảm bảo đo (KĐBĐ).

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiết trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### 2.2. Vật tư

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

Không áp dụng

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Cồn 70%.

- Đầu côn (típ) có lọc, tiệt trùng (các cỡ)
- Nước cất 2 lần.
- Gel chuyên dụng
- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Giấy thấm, bông cotton,...
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Bộ quả cân E2 hoặc tương đương
- Cân điện tử 6 số lẻ
- Cân điện tử 5 số lẻ
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm, áp suất hoặc tương đương
- Nhiệt kế đo nước hoặc tương đương

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Loại mẫu: các loại micropipet có dung tích đến 1mL.
- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu trước khi tiếp nhận.
- Sau khi tiếp nhận mẫu cần đặt các micropipet vào phòng hiệu chuẩn tối thiểu 12h trước khi tiến hành hiệu chuẩn.

#### 2.4.2. Xác định mức hiệu chuẩn

- Xác định mức hiệu chuẩn: nếu micropipet có 1 mức dung tích thì tiến hành hiệu chuẩn ở dung tích danh nghĩa đó. Trong trường hợp micropipet có nhiều mức (có thang đo) thì tiến hành hiệu chuẩn tại ít nhất 3 mức: Min, Max và trung bình.
- Trường hợp khách hàng yêu cầu các mức cụ thể thì hiệu chuẩn theo yêu cầu của khách hàng và không quá 3 mức đối với một lần hiệu chuẩn.

#### 2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng

- Xác định sử dụng cân phù hợp:
- + Nếu micropipet có dung tích danh nghĩa  $\leq 20 \mu\text{L}$  thì phải sử dụng cân 6 số lẻ.
- + Nếu micropipette có dung tích danh nghĩa  $> 20 \mu\text{L}$  thì nên sử dụng cân 5 số lẻ.

### 2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn

Không áp dụng.

## 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 18 giờ

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại phòng hiệu chuẩn có các yêu cầu về điều kiện như sau:
- + Nhiệt độ môi trường và nhiệt độ nước cất từ 18 °C đến 25 °C.
- + Độ ẩm môi trường (độ ẩm không khí trong phòng hiệu chuẩn) không quá 70%
- + Sự thay đổi nhiệt độ của nước cất trong quá trình thực hiện một phép đo không được vượt quá 0,2 °C.
- + Sự thay đổi của nhiệt độ môi trường không được vượt quá 1 °C trong 1 giờ và chênh lệch nhiệt độ của nước cất và môi trường không được vượt quá 2 °C

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện tại khu vực dành riêng cho việc hiệu chuẩn micropipet.
- Tại mỗi mức dung tích, thực hiện hiệu chuẩn theo 11 bước sau:
- + Bước 1: Xác định tổ hợp các quả cân chuẩn sao cho khối lượng của chúng tương đương với khối lượng chất lỏng cần cân;
- + Bước 2: Đặt tổ hợp quả cân lên cân (đã có bình rỗng) và đọc giá trị chỉ thị của cân Ir (mg), sau đó bỏ tổ hợp quả cân đã đặt thêm ra khỏi cân và đưa số chỉ của cân về "0"; Lặp lại 5 lần và ghi vào quan trắc gốc;
- + Bước 3: Lắp đầu tip vào micropipet. Lấy nước cất vào micropipet và xả 5 lần;
- + Bước 4: Đưa số chỉ của cân về "0";
- + Bước 5: Thay đầu côn mới. Lấy nước cất vào micropipet;
- + Bước 6: Xả nước cất từ micropipet vào bình cân. Chờ cân ổn định và đọc số chỉ của cân I<sub>f</sub> (mg);
- + Bước 7: Đo nhiệt độ của nước cất tại bình chứa t<sub>w</sub> (°C), nhiệt độ môi trường t<sub>a</sub> (°C), độ ẩm không khí (%RH) và áp suất khí quyển P(hPa);
- + Bước 8: Lặp lại tối thiểu 5 lần các bước từ 6 đến 7.
- + Bước 9: Tính toán sai số hệ thống (xem mục 10.2.3.5) từ các kết quả trên
- + Bước 10: Nếu kết quả sai số hệ thống đạt, tiếp tục hiệu chuẩn với các mực còn lại của Micropipet. Nếu kết quả sai số hệ thống không đạt và Micropipet không cho



phép hiệu chỉnh/không thể hiệu chỉnh thêm thì tiến hành hiệu chuẩn tiếp với các mức còn lại của pipet.

+ Bước 11: Nếu kết quả sai số hệ thống không đạt và Micropipet cho phép hiệu chỉnh thì tiến hành hiệu chỉnh lại theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau mỗi lần hiệu chỉnh thì lặp lại các bước từ 3 đến 10 trên.

- Sau khi hiệu chuẩn đầy đủ các mức dung tích thì chuyển sang bước tính toán và cấp giấy chứng nhận hiệu chuẩn trên máy tính.

#### 4.1.2. Tính toán độ KĐBĐ

##### a) Tính khối lượng riêng của nước cất

- Khối lượng riêng của nước cất  $\rho_w$  (kg/m<sup>3</sup>) được xác định theo công thức:

$$\rho_w = \sum_{i=0}^4 [a_i \cdot (t_w)^i]$$

- Trong đó:

+  $a^0 = 9,9985308 \times 10^2$  kg/m<sup>3</sup>;

+  $a_1 = 6,326930 \times 10^{-2}$  (°C)<sup>-1</sup> kg/m<sup>3</sup>;

+  $a_2 = -8,523829 \times 10^{-3}$  (°C)<sup>-2</sup> kg/m<sup>3</sup>;

+  $a_3 = 6,943248 \times 10^{-5}$  (°C)<sup>-3</sup> kg/m<sup>3</sup>;

+  $a_4 = -3,821216 \times 10^{-7}$  (°C)<sup>-4</sup> kg/m<sup>3</sup>.

##### b) Tính khối lượng riêng của không khí

- Khối lượng riêng của không khí  $\rho_a$  (kg/m<sup>3</sup>) được xác định theo công thức:

$$\rho_a = \frac{k_1 \cdot P + \phi \cdot (k_2 \cdot t_a + k_3)}{t_a + 273,15}$$

- Trong đó:

+ P: áp suất khí quyển, hPa;

+  $\phi$ : độ ẩm tương đối, %RH;

+  $t_a$ : nhiệt độ không khí;

+  $k_1 = 0,34844$  (kg/m<sup>3</sup>) · (°C/hPa);

+  $k_2 = -0,00252$  (kg/m<sup>3</sup>);

+  $k_3 = 0,020582$  (kg/m<sup>3</sup>) · °C.

##### c) Tính hệ số cân

- Hệ số cân tại lần đo thứ i  $K_{CMi}$  được xác định theo công thức:

$$K_{CMi} = \frac{m_c}{I_{ri}}$$

- Trong đó:

+  $m_c$ : khối lượng quy ước của tổ hợp quả cân, mg ;

- +  $I_{ti}$ : số chỉ của cân khi cân tổ hợp quả cân tại lần đo thứ  $i$ , mg.
- Hệ số cân  $K_{CM}$  được xác định theo công thức:

$$K_{CM} = \frac{\sum_{i=1}^n K_{CMi}}{n}$$

- Trong đó  $n$  là số lần đo.

d) *Tính dung tích chuẩn*

- Dung tích của micropipet quy về nhiệt độ tiêu chuẩn  $V_{t0}$  (mL) được xác định cho mỗi lần đo theo công thức:

$$V_{t0} = \frac{I_f \cdot K_{CM}}{\rho_w} \cdot \frac{1 - \frac{\rho_a}{\rho_s}}{1 - \frac{\rho_a}{\rho_w}}$$

- Trong đó:

- +  $I_f$ : số chỉ của cân khi cân nước cất, mg;
- +  $\rho_a = 1,2 \text{ kg/m}^3$
- +  $\rho_s = 8000 \text{ kg/m}^3$
- +  $\gamma$ : hệ số giãn nở khối theo nhiệt độ của micropipet,  $^{\circ}\text{C}^{-1}$
- +  $t_w$ : nhiệt độ của nước cất,  $^{\circ}\text{C}$ ;
- +  $t_0$ : nhiệt độ tiêu chuẩn,  $^{\circ}\text{C}$ .
- Sau khi biến đổi toán học ta có:

$$V_{t0} = 0,99985 \cdot \frac{I_f \cdot K_{CM}}{\rho_w - \rho_a} \cdot [1 - \gamma \cdot (t_w - t_0)]$$

e) *Tính sai số hệ thống*

- $V_{t0i}$  dung tích của micropipet tại lần đo thứ  $i$  đã quy về nhiệt độ tiêu chuẩn
- $\bar{V}$  là giá trị trung bình của các  $V_{t0i}$
- Sai số hệ thống  $e_s$  của dụng cụ đo thể tích được xác định theo công thức:

$$e_s = \bar{V} - V_s$$

- Hoặc tỉ lệ phần trăm:

$$e_s = 100(\bar{V} - V_s)/V_s$$

- Trong đó  $V_s$  là thể tích thử được chọn

f) *Tính sai số ngẫu nhiên*

- Sai số ngẫu nhiên  $s_r$  của dụng cụ đo thể tích được xác định theo công thức:

$$s_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (V_{t_{oi}} - \bar{V})^2}{n(n-1)}}$$

- Sai số ngẫu nhiên này cũng có thể được tính bằng phần trăm, CV, theo công thức:

$$CV = 100 \frac{s_r}{\bar{V}} \cdot \frac{V_s}{V_0}$$

- Trong đó  $V_0$  là thể tích danh định

g) *Ước lượng độ KĐBĐ*

- Mô hình toán học của dung tích micropipet theo công thức:

$$V_{T0} = f(\bar{V}; I_f; K_{CM}; \rho_w; \rho_a; t_w; a_{pg})$$

- Độ KĐBĐ tổng hợp của phép hiệu chuẩn dung tích micropipet được xác định theo công thức:

$$u_c = \sqrt{\sum (c_i^2 \cdot u_i^2)}$$

+ Trong đó:

- $u_i$ : độ KĐBĐ chuẩn của ước lượng đầu vào  $x_i$ ;
- $c_i$ : hệ số nhạy tương ứng với ước lượng đầu vào  $x_i$ .
- ĐKĐBĐ loại A

+ Độ KĐBĐ loại A,  $u_{\bar{V}}$  được xác định theo công thức:

$$u_{\bar{V}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (V_{t_{oi}} - \bar{V})^2}{n(n-1)}}$$

+ Trong đó:

- $V_{t_{oi}}$ : dung tích của micropipet tại lần đo thứ  $i$ , mL;
- $\bar{V}$ : giá trị trung bình của các  $V_{t_{oi}}$  mL.

+ Hệ số nhạy:

- $c_V = 1$

- Độ KĐBĐ của số chỉ của cân trước khi cân

+ Độ KĐBĐ của số chỉ của cân khi cân nước  $u_{if}$  được xác định theo công thức:

$$u_{if} = \frac{U_{ba}}{2}$$

+ Trong đó  $U_{ba}$ : độ KĐBĐ mở rộng của cân từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn, mg.

+ Hệ số nhạy:



$$c_{if} = \frac{0,99985 \cdot K_{CM}}{\rho_w - \rho_a} \cdot [1 - \gamma \cdot (t_w - t_0)]$$

- Độ KĐBĐ khối lượng riêng của nước

+ Độ KĐBĐ của khối lượng riêng nước upw (kg/m<sup>3</sup>) được xác định theo công thức:

$$u_{\rho_w} = \sqrt{\left(u_{t_w} \cdot \frac{\delta \rho_w}{\delta t_w}\right)^2 + \frac{\Delta_w^2}{3}}$$

$$\frac{\delta \rho_w}{\delta t_w} = 4a_4 \cdot t_w^3 + 3a_3 \cdot t_w^2 + 2a_2 \cdot t_w + a_1$$

+ Trong đó:

•  $u_{t_w}$ : Độ KĐBĐ của phép xác định nhiệt độ nước cất, °C;

•  $\Delta_w$ ; sai số của công thức,  $\Delta_w = 10^{-6} \cdot \rho_w$ .

+ Hệ số nhạy:

$$c_{\rho_w} = -0,99985 \cdot \frac{I_f \cdot K_{CM}}{(\rho_w - \rho_a)^2} \cdot [1 - \gamma \cdot (t_w - t_0)]$$

- Độ KĐBĐ của khối lượng riêng của không khí

+ Độ KĐBĐ của khối lượng riêng nước upa (kg/m<sup>3</sup>) được xác định theo công thức:

$$u_{\rho_a} = \sqrt{c_p^2 \cdot u_p^2 + c_\phi^2 \cdot u_\phi^2 + c_{t_a}^2 \cdot u_{t_a}^2 + \frac{\Delta_a^2}{3}}$$

$$c_p = \frac{k_1}{t_a + 273,15}$$

$$c_\phi = \frac{k_2 \cdot t_a + k_3}{t_a + 273,15}$$

$$c_{t_a} = \frac{\phi \cdot (273,15 \cdot k_2 - k_3) - k_1 \cdot P}{(t_a + 273,15)^2}$$

+ Trong đó:

•  $u_p$ : độ KĐBĐ của phép đo áp suất khí quyển, hPa ;

•  $u_\phi$ : độ KĐBĐ của phép đo độ ẩm không khí, % RH ;

•  $u_{t_a}$ : độ KĐBĐ của phép đo nhiệt độ môi trường, °C;

•  $\Delta_a$ : sai số của công thức,  $\Delta_a = 10^{-4} \cdot \rho_a$ .

+ Hệ số nhạy:

$$c_{\rho_a} = 0,99985 \cdot \frac{I_f \cdot K_{CM}}{(\rho_w - \rho_a)^2} \cdot [1 - \gamma \cdot (t_w - t_0)]$$

- Độ KĐBĐ của hệ số giãn nở khối theo nhiệt độ của micropipet

+ Độ KĐBĐ của hệ số giãn nở khối theo nhiệt độ của micropipet  $u_\gamma$  ( $^{\circ}\text{C}^{-1}$ ) được xác định theo công thức (hệ số giãn nở khối theo nhiệt độ có độ chính xác  $\pm 10\%$ ):

+ Hệ số nhạy:

$$c_\gamma = -0,99985 \cdot \frac{I_f \cdot K_{CM}}{\rho_w - \rho_a} \cdot [t_w - t_0]$$

- Độ KĐBĐ của nhiệt độ nước cất

+ Độ KĐBĐ của nhiệt độ nước cất là độ không đảm bảo của phép xác định nhiệt độ nước cất  $u_{t_w}$

+ Hệ số nhạy:

$$c_{t_w} = -0,99985 \cdot \frac{I_f \cdot K_{CM}}{\rho_w - \rho_a}$$

- Độ KĐBĐ mở rộng

+ Độ KĐBĐ mở rộng  $U$  (mL) được xác định theo công thức:

$$U = k \cdot u_c$$

+ Trong đó  $k$ : hệ số phủ,  $k = 2$  ứng với mức độ tin cậy xấp xỉ 95%

- Các số liệu được ghi vào biên bản hiệu chuẩn và sẽ được nhập vào máy tính để tính toán đưa ra kết quả.

#### 4.1.3. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau hiệu chuẩn

- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định

- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được trả về chế độ cài đặt ban đầu, dán tem và bàn giao lại cho khách hàng.

### 4.2. Nhận định kết quả

- Tùy theo yêu cầu của khách hàng có thể công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn.

- Đối với khách hàng không có yêu cầu cụ thể về cách đánh giá kết quả hiệu chuẩn thì sử dụng kết quả tính toán sai số ngẫu nhiên và sai số hệ thống để so sánh với tiêu chuẩn ISO 8655-2:2022.

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.

- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.

- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả hiệu chuẩn.

- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

- Biểu mẫu Quan trắc gốc
- Biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng
- Thời gian đặt mẫu để ổn định nhiệt độ, độ ẩm chưa đủ 12 giờ. Cần chờ đủ thời gian.
- Cân điện tử chưa được sấy máy trước 30 phút. Cần chờ đủ thời gian

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhiệt độ nước cất thay đổi vượt quá 0,2 °C trong quá trình thực hiện. Chờ nhiệt độ nước cất ổn định và tiến hành thực hiện hiệu chuẩn lại.
- Nhiệt độ môi trường thay đổi vượt quá 1 °C trong 1 giờ. Điều chỉnh hệ thống điều hòa, chờ nhiệt độ môi trường ổn định mới được tiến hành thực hiện hiệu chuẩn lại.
- Chênh lệch nhiệt độ của nước cất và môi trường vượt quá 2 °C. Điều chỉnh hệ thống điều hòa, chờ nhiệt độ môi trường và nước cất ổn định mới được tiến hành thực hiện hiệu chuẩn lại.

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả
- Áp dụng sai mức đánh giá. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả
- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Nội kiểm

Không áp dụng.

#### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.



## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Gilson guide to pipetting, Third Edition, 2015.
- International standard ISO 8655-2:2022.
- EURAMET cg-19, Version 2.1 (03/2012): Guidelines on the determination of uncertainty in gravimetric volume calibration.

*Handwritten signatures in blue ink.*

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 267:  
HIỆU CHUẨN TỦ NHIỆT**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện, điều kiện hiệu chuẩn, trình tự, tính toán xử lý kết quả hiệu chuẩn tủ nhiệt nhằm đảm bảo việc hiệu chuẩn luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

- Tủ nhiệt là thiết bị sử dụng điện để gia nhiệt hoặc làm lạnh không khí khoang làm việc có hệ thống đo và điều khiển nhiệt độ theo giá trị đặt. Ví dụ: tủ lạnh, tủ ấm, tủ sấy, nồi hấp ...

- Độ đồng đều ( $\delta T_{dd}$ ) được xác định là sai lệch tối đa của nhiệt độ ở các vị trí đo trong không gian sử dụng của thiết bị (theo tiêu chuẩn DIN EN 60068-3-5).

- Độ ổn định ( $\delta T_{od}$ ) được xác định từ sai lệch nhiệt độ theo thời gian hiệu chuẩn.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- KĐBĐ: Không đảm bảo đo
- Min: Giá trị thấp nhất
- Max: Giá trị cao nhất

### **1.3. Nguyên lý**

Nguyên lý sử dụng các cảm biến nhiệt độ có độ chính xác, cấp chính xác tốt hơn tủ nhiệt được hiệu chuẩn. Các cảm biến này được đặt trong môi trường nhiệt độ của tủ nhiệt trong một khoảng thời gian nhất định sau khi tủ nhiệt ổn định ở nhiệt độ cài đặt. So sánh kết quả của các cảm biến chuẩn này với cảm biến nhiệt độ của chính tủ nhiệt để đưa ra sai lệch đồng thời tính toán công bố độ KĐBĐ.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư**

#### **2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

Không áp dụng.

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Pin chuyên dụng cho cảm biến
- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Cảm biến nhiệt độ không dây hoặc tương đương
- Bộ hiệu chuẩn nhiệt độ tủ nhiệt cảm dây hoặc tương đương
- Dây cảm biến nhiệt độ RTD, K hoặc tương đương
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm, áp suất không dây hoặc tương đương
- Máy tính xách tay và bộ phận kết nối với phần mềm máy tính
- Hệ thống giá lắp, treo cảm biến nhiệt độ

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Loại mẫu: các loại tủ nhiệt trong dải nhiệt độ từ -80 °C đến 300 °C theo thang nhiệt độ quốc tế 1990 (ITS-90).
- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu khi khách bàn giao

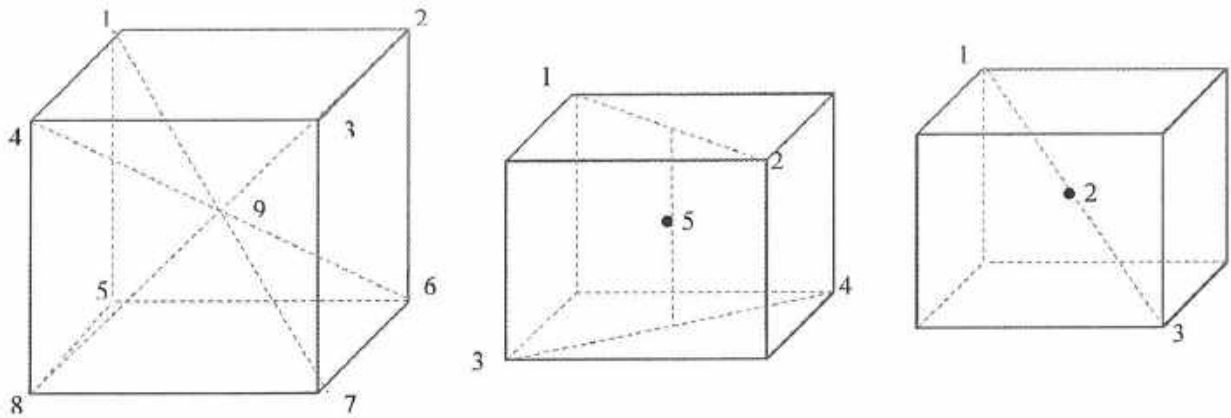
#### 2.4.2. Xác định mức hiệu chuẩn

- Hiệu chuẩn tại mức khách hàng yêu cầu.
- Trường hợp khách hàng không yêu cầu về mức cụ thể thì tiến hành hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

#### 2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng

- Chuẩn bị các cảm biến nhiệt độ chuẩn rồi đưa vào tủ nhiệt, có thể đưa các dây cảm biến nhiệt độ chuẩn theo lối vào có sẵn của tủ nhiệt được thiết kế bởi nhà sản xuất, sau đó dùng vật liệu cách nhiệt lấp kín hoặc đưa các cảm biến nhiệt độ chuẩn theo cửa tủ nếu cửa có thể đóng kín được khi hoạt động.





Hình 1: Vị trí cảm biến nhiệt độ chuẩn

- Các cảm biến nhiệt độ chuẩn được đặt cố định phân bố đều trong tủ, phân bố theo các góc của một hình khối lăng trụ, các điểm đo không gian của đầu đo nhiệt độ chuẩn được đặt cách các thành của tủ nhiệt một khoảng cách từ 50 mm đến 60 mm và 1 cảm biến nhiệt độ chuẩn được đặt cố định tại tâm hình học của tủ (xem hình 1).

- Lắp các cảm biến nhiệt độ chuẩn vào thiết bị chỉ thị (hoặc tự ghi) chuẩn theo đúng vị trí các kênh (xem số ghi trên đầu của đầu đo nhiệt độ chuẩn)/ ghi nhiệt độ theo các kênh tương ứng.

- Số lượng các cảm biến nhiệt độ chuẩn là 3, 5 hay 9 phụ thuộc vào thể tích của tủ nhiệt:

+Thể tích buồng nhiệt  $\leq 0,5 \text{ m}^3$ : số cảm biến nhiệt độ chuẩn là 3 hoặc 5,

+Thể tích buồng nhiệt  $> 0,5 \text{ m}^3$ : số cảm biến nhiệt độ chuẩn là 9.

## 2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn

Không áp dụng.

## 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 6 giờ

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại cơ sở của khách hàng

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra đo lường theo trình tự, nội dung, phương pháp và các yêu cầu sau đây:

+Số điểm nhiệt độ kiểm tra phải được chia đều trong dải nhiệt độ cần hiệu chuẩn (hoặc theo yêu cầu của cơ sở sử dụng); kiểm tra từ điểm nhiệt độ thấp đến điểm nhiệt độ cao.

+Các phép đo nhiệt độ được thực hiện khi nhiệt độ của tủ nhiệt đã ổn định trong 10 phút.

+Trình tự kiểm tra tại mỗi điểm nhiệt độ: Đặt nhiệt độ của tủ nhiệt tương ứng với giá trị nhiệt độ đầu tiên cần kiểm tra. Cài đặt chế độ chạy cho cảm biến nhiệt độ chuẩn: thời gian bắt đầu chạy, thời gian lấy mẫu theo, thời gian lấy mẫu được cài đặt là 1 phút/1 lần. Bố trí các cảm biến nhiệt độ chuẩn vào trong tủ như quy định ở mục 2.4.3.

+Sau khi nhiệt độ trong thiết bị đã ổn định, đọc số chỉ nhiệt độ của bộ hiển thị tủ nhiệt và ghi các giá trị này vào trong Biên bản hiệu chuẩn tủ nhiệt. Số lượt đọc tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra không ít hơn 3 lần và phải đảm bảo có các giá trị Min, Max, trung bình của một chu trình.

+Lần lượt tiến hành đo tương tự đối với các điểm nhiệt độ kiểm tra tiếp theo cho đến điểm nhiệt độ kiểm tra cuối cùng.

#### 4.1.2. Tính toán độ KĐBĐ

##### a) Tính số hiệu chính của tủ nhiệt

- Số hiệu chính của tủ nhiệt tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra được tính theo công thức:

$$\Delta t = \overline{t_{ch}} - \overline{t_{tn}}$$

trong đó:

$$\overline{t_{ch}} = \frac{1}{k} \sum_{j=1}^k \overline{t_j}$$

-  $\overline{t_j}$ : giá trị trung bình của mỗi cảm biến nhiệt độ chuẩn (chỉ thị chuẩn), tính theo công thức:

$$\overline{t_j} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (t_i - \partial t_j)_i$$

với:

$\partial t_j$ : số hiệu chính của cảm biến chuẩn thứ j tại điểm nhiệt độ kiểm tra (xem trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn).

n: số lần đo của mỗi cảm biến nhiệt độ chuẩn tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra.

$\overline{t_{tn}}$ : Giá trị trung bình của chỉ thị tủ nhiệt tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra, tính theo công thức:

$$\overline{t_{tn}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i$$

*Ghi chú:* Số hiệu chính của tủ nhiệt ( $\Delta t$ ) tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra không được vượt quá giá trị sai số tương ứng với độ chính xác của tủ nhiệt.

##### b) Tính độ ổn định của tủ nhiệt

- Độ ổn định của tủ nhiệt tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{od} = \pm \frac{1}{2} \max (t_{\max,j} - t_{\min,j}) \quad j: 1, 2, \dots, k$$

trong đó:

$\delta t_{od}$ : độ ổn định của tủ nhiệt tại nhiệt độ kiểm tra.

$t_{\max,j}$ ;  $t_{\min,j}$ : nhiệt độ cao nhất và thấp nhất của cảm biến nhiệt độ chuẩn thứ  $j$  tại điểm nhiệt độ kiểm tra.

c) *Tính độ đồng đều của tử nhiệt*

- Độ đồng đều của tử nhiệt tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{dd} = \pm \frac{1}{2} [t_{\max} - t_{\min}]$$

trong đó:

$\delta t_{dd}$ : độ đồng đều của tử nhiệt.

$t_{\max}$ ,  $t_{\min}$ : Nhiệt độ lớn nhất và nhỏ nhất trong  $k$  cảm biến nhiệt độ chuẩn.

d) *Ước lượng độ KĐBĐ*

- Độ KĐBĐ tổng hợp của phép hiệu chuẩn tử nhiệt được xác định theo công thức:

$$u_c = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{bk}^2}$$

trong đó:

$u_{ch}$ : Độ KĐBĐ của tổ hợp chuẩn

$u_{bk}$ : Độ KĐBĐ của tử nhiệt

- ĐKĐBĐ của tổ hợp chuẩn

Độ KĐBĐ của tổ hợp chuẩn ( $u_{ch}$ ) gồm các thành phần sau:

+Độ KĐBĐ chuẩn loại A của chỉ thị các cảm biến nhiệt độ chuẩn ( $u_{ch1}$ )

+Độ KĐBĐ của tổ hợp chuẩn, gồm thiết bị chỉ thị đo với các cảm biến nhiệt độ chuẩn:  $u_{ch2}$

+Độ KĐBĐ chuẩn liên hợp của tổ hợp chuẩn:  $u_{ch}$

$$u_{ch} = \sqrt{u_{ch1}^2 + u_{ch2}^2}$$

+Độ KĐBĐ của tử nhiệt

+Độ KĐBĐ của tử nhiệt ( $u_{bk}$ ) gồm các thành phần sau:

+Độ KĐBĐ chuẩn loại A của tử nhiệt:  $u_{bk1}$

$$u_{bk1} = \sqrt{\frac{\sum_1^N S_j^2}{n}}$$

trong đó:  $S_j$  là độ lệch chuẩn tại điểm đo thứ  $N$ ,  $n$  là số lần đọc tại mỗi điểm đo.

$$S_j = \sqrt{\frac{\sum_1^n (t_i - \bar{t})^2}{(n-1)}}$$

$n$ : số lần đọc tại mỗi điểm,

$t_i$ : lần đọc thứ  $i$  của tử nhiệt,

$\bar{t}$ : nhiệt độ trung bình tại điểm kiểm tra của tử nhiệt.



+Độ KĐBĐ tính theo độ ổn định:  $u_{bk2}$

$$u_{bk2} = \frac{\delta t_{od}}{\sqrt{3}}$$

+Độ KĐBĐ tính theo độ đồng đều  $u_{bk3}$

$$u_{bk3} = \frac{\delta t_{dd}}{\sqrt{3}}$$

+Độ KĐBĐ tính theo độ phân giải của chỉ thị từ nhiệt:  $u_{bk4}$

+Đối với chỉ thị tương tự:

$$u_{bk4} = \frac{d}{10\sqrt{3}}$$

+Đối với chỉ thị hiện số:

$$u_{bk4} = \frac{d}{2\sqrt{3}}$$

trong đó:

d: độ phân giải chỉ thị của từ nhiệt

+Độ KĐBĐ chuẩn liên hợp của từ nhiệt:  $u_{bk}$

$$u_{bk} = \sqrt{u_{bk1}^2 + u_{bk2}^2 + u_{bk3}^2 + u_{bk4}^2}$$

- Độ KĐBĐ tổng hợp  $u_c$

$$u_{pw} u_c = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{bk}^2}$$

- Độ KĐBĐ mở rộng:  $U_{95}$

Tính với mức độ tin cậy 95% C.L.; hệ số phủ  $k = 2$ :

$$U_{95} = 2 u_c$$

#### 4.1.3. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau hiệu chuẩn.

- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định

- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được trả về chế độ cài đặt ban đầu và bàn giao lại thiết bị cho khách hàng.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Tùy theo yêu cầu của khách hàng có thể công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn.

- Đối với khách hàng không có yêu cầu cụ thể về cách đánh giá kết quả hiệu chuẩn thì công bố độ KĐBĐ, độ ổn định, độ đồng đều, số hiệu chính hoặc sai số.

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.
  - Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
  - Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả hiệu chuẩn.
  - Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.
- 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu
- Biểu mẫu Quan trắc gốc
  - Biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn
- 4.3.3. Hồ sơ
- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử
  - Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

## **5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật**

- Thông tin về mức hiệu chuẩn giữa hợp đồng (phiếu yêu cầu) và thực tế tại cơ sở của khách không khớp. Cần thông báo ngay cho khách hàng và thống nhất lại mức hiệu chuẩn này.
- Các cảm biến chuẩn, dây cảm biến chuẩn hết hạn hiệu chuẩn. Đảm bảo tất cả cảm biến, dây cảm biến sử dụng khi hiệu chuẩn phải còn hạn hiệu chuẩn.

### **5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Pin của các cảm biến chuẩn hết pin, dẫn đến không thể tiếp tục quá trình hiệu chuẩn. Phải kiểm tra trình trạng của các cảm biến trước khi tới cơ sở của khách hàng.
- Mất điện tại cơ sở của khách hàng trong quá trình hiệu chuẩn. Thông báo cho khách hàng về tình huống và thống nhất thời điểm tiến hành hiệu chuẩn lại.

### **5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả
- Áp dụng sai mức đánh giá. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả
- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

### **6.1. Nội kiểm**

Không áp dụng.

### **6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng**

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- DIN EN 60068-3-5:2002 Environmental testing – Part 3-5: Supporting documentation and guidance, Confirmation of the performance of temperature chambers
- DIN 12880 (parts 1 and 2) Climatic chambers
- Guideline DKD-R 5-7 Calibration of Climatic Chamber
- Quy trình hiệu chuẩn tủ nhiệt VMI – CP17: 2013





**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 268:  
HIỆU CHUẨN MÁY LY TÂM**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện, điều kiện hiệu chuẩn, trình tự, tính toán xử lý kết quả hiệu chuẩn từ nhiệt nhằm đảm bảo việc hiệu chuẩn luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

### **1.2. Định nghĩa**

#### 1.2.1. Giải thích từ ngữ

Không áp dụng.

#### 1.2.2. Từ viết tắt

- KĐBĐ: Không đảm bảo đo
- UUC: Phương tiện đo cần hiệu chuẩn

### **1.3. Nguyên lý**

Hiệu chuẩn máy ly tâm thực chất là hiệu chuẩn tốc độ vòng quay của rotor trong máy ly tâm, bằng cách sử dụng một thiết bị đo tốc độ vòng quay bằng tia hồng ngoại chuẩn dạng không tiếp xúc. So sánh kết quả đo được này với giá trị cài đặt của UUC để đưa ra sai lệch đồng thời tính toán công bố độ KĐBĐ.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

### **2.2. Vật tư**

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

Không áp dụng.

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Giấy phân quang
- Pin 9V
- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Kính bảo hộ

- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất

### 2.3. Thiết bị

- Máy đo tốc độ vòng quay hoặc tương đương.

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Loại mẫu: các máy ly tâm có tốc độ nằm trong dải đo của chuẩn (10 ÷ 50.000 rpm) và có bộ phận hiển thị tốc độ vòng quay. Quy trình này cũng có thể áp dụng cho các thiết bị khác có chức năng tạo tốc độ vòng quay tương tự (gọi tắt là thiết bị quay).

- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu khi khách bàn giao.

#### 2.4.2. Xác định mức hiệu chuẩn

- Hiệu chuẩn tại mức khách hàng yêu cầu.

- Trường hợp khách hàng không yêu cầu về mức cụ thể thì tiến hành hiệu chuẩn theo các bước dưới đây:

+ Với máy ly tâm có tốc độ vòng quay tối đa dưới 10 000 rpm thì hiệu chuẩn với bước nhảy là 500 rpm, tức là hiệu chuẩn từ (500, 1000, 1500, ..., Max) rpm.

+ Với máy ly tâm có tốc độ vòng quay tối đa từ 10 000 rpm trở lên thì hiệu chuẩn với bước nhảy là 1000 rpm, tức là hiệu chuẩn từ (500, 1000, 2000, 3000, ....., Max) rpm.

+ Với loại máy ly tâm dung nôm vặn để điều chỉnh thay đổi tốc độ vòng quay thì hiệu chuẩn các bước nhảy theo vạch ghi trên núm vặn của thiết bị đó.

#### 2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng

- Sử dụng máy đo tốc độ vòng quay có độ phân giải tối thiểu 1 rpm hoặc tốt để hiệu chuẩn các UUC.

### 2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn

Không áp dụng.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 5 giờ

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại cơ sở của khách hàng

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

- Tại mỗi mức vòng quay hiệu chuẩn, thực hiện theo 4 bước sau:
  - +Bước 1: Kiểm tra sơ bộ và bật máy ly tâm
  - +Bước 2: Thao tác chuyển tốc độ vòng quay về mức cần hiệu chuẩn, khi đã đạt.
  - +Bước 3: Bật máy đo tốc độ vòng quay để đo, chờ cho tốc độ quay ổn định
  - +Bước 4: Ghi chép lại kết quả vừa đo vào quan trắc gốc mã biểu mẫu
- Tại mỗi mức hiệu chuẩn tiến hành đo lặp lại tối thiểu 5 lần và ghi kết quả vào biên bản hiệu chuẩn.
- Đối với máy ly tâm, sai số cho phép thường là  $\pm 5\%$ , hoặc theo quy định kỹ thuật của nhà sản xuất.

#### 4.1.2. Tính toán độ KĐBĐ

##### a) Tính toán số hiệu chính

- Giá trị thực của UUC được tính bởi công thức:

$$R_t = (R_1 + R_2 + R_3 + R_4 + R_5)/5 + \Delta R_{cal}$$

trong đó:

$R_t$  = giá trị thực của UUC tại mỗi mức, rpm

$R_{1,2,3,4,5}$  = giá trị đo được bởi chuẩn lần 1, 2, 3, 4, 5 tại mỗi mức, rpm.

$\Delta R_{cal}$  = số hiệu chỉnh tốc độ vòng quay của máy đo tốc độ vòng quay

- Xác định số hiệu chỉnh của UUC được tính bởi công thức:

$$R_{hc} = R_t - R_{cd}$$

trong đó:  $R_{cd}$  = giá trị cài đặt, rpm.

##### b) Tính độ KĐBĐ

- Tính độ ĐKĐBĐ loại A của UCC
- Tính giá trị đo trung bình của UUC:

$$\bar{r} = \sum_{i=1}^5 \frac{r_i}{5}$$

- Tính độ lệch chuẩn:

$$S_i = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^5 (r_i - \bar{r})^2}{5 - 1}}$$

- Độ KĐBĐ loại A:



2537

$$u_A = \frac{S_i}{\sqrt{3}}$$

- Độ KĐBĐ loại B

$$u_B = \frac{b}{2\sqrt{3}}$$

trong đó b là độ phân giải của UUC, phân bố hình chữ nhật

- Tính độ ĐKĐBĐ của phép hiệu chuẩn UCC.

$$u_{cr} = \sqrt{u_A^2 + u_B^2}$$

- Tính độ KĐBĐ tổng hợp của phép hiệu chuẩn.

+Độ KĐBĐ của chuẩn được sử dụng trong phép hiệu chuẩn

$$u_{ch} = \frac{U_{ch}}{2}$$

+ $U_{ch}$  được lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn

+ĐKĐBĐ tổng hợp

$$u_C = \sqrt{u_{cr}^2 + u_{ch}^2}$$

- Độ KĐBĐ mở rộng

$U = k \times u_C$ , Với:  $k=2$ ; mức độ tin cậy 95% CL

Hoặc  $U (\%) = [(k \cdot u_C) \times 100] / T_{rpm}$

Trong đó:  $T_{rpm}$ : giá trị tốc độ vòng quay tại mức được xác định

k: hệ số phủ,  $k = 2$  ứng với mức độ tin cậy xấp xỉ 95%

#### 4.1.3. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau hiệu chuẩn.

- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định

- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được trả về chế độ cài đặt ban đầu và bàn giao lại thiết bị cho khách hàng.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Tùy theo yêu cầu của khách hàng có thể công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn.

- Đối với khách hàng không có yêu cầu cụ thể về cách đánh giá kết quả hiệu chuẩn thì công bố độ KĐBĐ, số hiệu chính hoặc sai số.

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.

- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.

- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả hiệu chuẩn.

- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

- Biểu mẫu Quan trắc gốc

- Biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Thông tin về mức hiệu chuẩn giữa hợp đồng (phiếu yêu cầu) và thực tế tại cơ sở của khách không khớp. Cần thông báo ngay cho khách hàng và thống nhất lại mức hiệu chuẩn này.

- Thông tin về việc hiệu chuẩn các thông số khác (nhiệt độ, thời gian) không được thông tin trước khi đến làm tại cơ sở. Cần thống nhất lại với khách và làm các thủ tục cần thiết khác.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không hiệu chuẩn được do Giấy phản quang hết hạn sử dụng, bị ẩm mốc hoặc trầy xước. Cần phải đảm bảo sử dụng giấy phản quang còn hạn sử dụng nhằm đảm bảo đặc tính kỹ thuật.

- Thiết bị cần hiệu chuẩn bị rung dẫn đến kết quả hiệu chuẩn không chính xác. Phải đặt lại thiết bị lên bàn vững chắc, không bị rung, lắc khi hoạt động.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Áp dụng sai mức đánh giá. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm

Không áp dụng.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

**7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Centrifuge Calibration Verification – Guidelines, version 1.1: 2007, Johns Hopkins University.

*Handwritten signatures*



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 269:****HIỆU CHUẨN BỂ NHIỆT****1. ĐẠI CƯƠNG****1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện, điều kiện hiệu chuẩn, trình tự, tính toán xử lý kết quả hiệu chuẩn tủ nhiệt nhằm đảm bảo việc hiệu chuẩn luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

**1.2. Định nghĩa****1.2.1. Giải thích từ ngữ**

- Bể nhiệt là thiết bị sử dụng điện để gia nhiệt nước trong khoang làm việc, có hệ thống đo và điều khiển nhiệt độ theo giá trị đặt

- Độ đồng đều ( $\delta T_{dd}$ ) được xác định là sai lệch tối đa của nhiệt độ ở các vị trí đo trong không gian sử dụng của thiết bị (theo tiêu chuẩn DIN EN 60068-3-5).

- Độ ổn định ( $\delta T_{od}$ ) được xác định từ sai lệch nhiệt độ theo thời gian hiệu chuẩn.

**1.2.2. Từ viết tắt**

- KĐBĐ: Không đảm bảo đo

- Min: Giá trị thấp nhất

- Max: Giá trị cao nhất

**1.3. Nguyên lý**

Nguyên lý sử dụng các cảm biến nhiệt độ có độ chính xác, cấp chính xác tốt hơn bể nhiệt được hiệu chuẩn. Các cảm biến này được đặt trong môi trường nhiệt độ của bể nhiệt trong một khoảng thời gian nhất định sau khi bể nhiệt ổn định ở nhiệt độ cài đặt. So sánh kết quả của các cảm biến chuẩn này với cảm biến nhiệt độ của chính bể nhiệt để đưa ra sai lệch đồng thời tính toán công bố độ KĐBĐ.

**2. CHUẨN BỊ****2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

**2.2. Vật tư****2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

Không áp dụng.

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Pin chuyên dụng cho cảm biến nhiệt độ
- Dung dịch khử trùng
- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Cảm biến nhiệt độ không dây hoặc tương đương
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm, áp suất không dây hoặc tương đương
- Máy tính xách tay và bộ phận kết nối với phần mềm máy tính
- Hệ thống giá lắp, treo cảm biến nhiệt độ

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

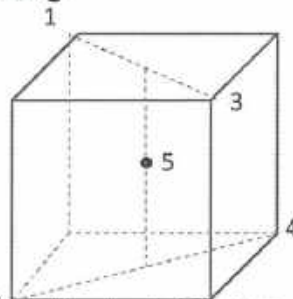
- Loại mẫu: các bể nhiệt có môi chất tải là dạng lỏng với nhiệt độ làm việc từ  $(25 \div 98)^\circ\text{C}$ .
- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu khi khách bàn giao

#### 2.4.2. Xác định mức hiệu chuẩn

- Hiệu chuẩn tại mức khách hàng yêu cầu.
- Trường hợp khách hàng không yêu cầu về mức cụ thể thì tiến hành hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

#### 2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng

- Chuẩn bị các cảm biến nhiệt độ không dây, đặt vào bể nhiệt theo sơ đồ hình 1, rồi đóng kín nắp bể nhiệt khi hoạt động



Hình 1: Vị trí đặt cảm biến nhiệt độ không dây

### 2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn

Không áp dụng.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 6 giờ

*Handwritten signatures and initials in blue ink.*

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại cơ sở của khách hàng

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện trong ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra đo lường theo trình tự, nội dung, phương pháp và các yêu cầu sau đây:

+Số điểm nhiệt độ kiểm tra phải được chia đều trong dải nhiệt độ cần hiệu chuẩn (hoặc theo yêu cầu của cơ sở sử dụng); kiểm tra từ điểm nhiệt độ thấp đến điểm nhiệt độ cao.

+Các phép đo nhiệt độ được thực hiện khi nhiệt độ của tủ nhiệt đã ổn định trong 10 phút.

+Trình tự kiểm tra tại mỗi điểm nhiệt độ: Đặt nhiệt độ của bể nhiệt tương ứng với giá trị nhiệt độ đầu tiên cần kiểm tra. Cài đặt chế độ chạy cho cảm biến nhiệt độ chuẩn: thời gian bắt đầu chạy, thời gian lấy mẫu, thời gian lấy mẫu được cài đặt là 1 phút/1 lần. Bố trí các cảm biến nhiệt độ chuẩn vào trong bể như quy định ở mục 2.4.3.

+Sau khi nhiệt độ trong thiết bị đã ổn định, đọc số chỉ nhiệt độ của bộ hiển thị bề nhiệt và ghi các giá trị này vào trong Biên bản hiệu chuẩn bề nhiệt. Số lượt đọc tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra không ít hơn 3 lần và phải đảm bảo có các giá trị Min, Max, trung bình của một chu trình.

+Lần lượt tiến hành đo tương tự đối với các điểm nhiệt độ kiểm tra tiếp theo cho đến điểm nhiệt độ kiểm tra cuối cùng.

#### 4.1.2. Tính toán độ KĐBĐ

##### e) Tính số hiệu chỉnh của bề nhiệt

- Số hiệu chỉnh của bề nhiệt tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra được tính theo công thức:

$$\Delta t = \overline{t_{ch}} - \overline{t_{tn}}$$

trong đó:

$$\overline{t_{ch}} = \frac{1}{k} \sum_{j=1}^k \bar{t}_j$$

-  $\bar{t}_j$ : giá trị trung bình của mỗi cảm biến nhiệt độ chuẩn (chỉ thị chuẩn), tính theo công thức:

$$\bar{t}_j = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (t_i - \partial t_j)$$

với:



$\delta t_j$ : số hiệu chỉnh của cảm biến chuẩn thứ j tại điểm nhiệt độ kiểm tra (xem trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn).

n: số lần đo của mỗi cảm biến nhiệt độ chuẩn tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra.

$\overline{t_{tn}}$ : Giá trị trung bình của chỉ thị bề nhiệt tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra, tính theo công thức:

$$\overline{t_{tn}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i$$

*Ghi chú:* Số hiệu chỉnh của bề nhiệt ( $\Delta t$ ) tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra không được vượt quá giá trị sai số tương ứng với độ chính xác của bề nhiệt.

f) Tính độ ổn định của bề nhiệt

- Độ ổn định của bề nhiệt tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{od} = \pm \frac{1}{2} \max (t_{\max,j} - t_{\min,j}) \quad j: 1, 2, \dots, k$$

trong đó:

$\delta t_{od}$ : độ ổn định của bề nhiệt tại nhiệt độ kiểm tra.

$t_{\max,j}$ ;  $t_{\min,j}$ : nhiệt độ cao nhất và thấp nhất của cảm biến nhiệt độ chuẩn thứ j tại điểm nhiệt độ kiểm tra.

g) Tính độ đồng đều của bề nhiệt

- Độ đồng đều của bề nhiệt tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{dd} = \pm \frac{1}{2} [t_{\max} - t_{\min}]$$

trong đó:

$\delta t_{dd}$ : độ đồng đều của bề nhiệt.

$t_{\max}$ ,  $t_{\min}$ : Nhiệt độ lớn nhất và nhỏ nhất trong k cảm biến nhiệt độ chuẩn.

h) Ước lượng độ KĐBĐ

- Độ KĐBĐ tổng hợp của phép hiệu chuẩn bề nhiệt được xác định theo công thức:

$$u_c = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{bk}^2}$$

trong đó:

$u_{ch}$ : Độ KĐBĐ của tổ hợp chuẩn

$u_{bk}$ : Độ KĐBĐ của bề nhiệt

- ĐKĐBĐ của tổ hợp chuẩn

Độ KĐBĐ của tổ hợp chuẩn ( $u_{ch}$ ) gồm các thành phần sau:

+Độ KĐBĐ chuẩn loại A của chỉ thị các cảm biến nhiệt độ chuẩn ( $u_{ch1}$ )

+Độ KĐBĐ của tổ hợp chuẩn, gồm thiết bị chỉ thị đo với các cảm biến nhiệt độ chuẩn:  $u_{ch2}$

+Độ KĐBĐ chuẩn liên hợp của tổ hợp chuẩn:  $u_{ch}$

$$u_{ch} = \sqrt{u_{ch1}^2 + u_{ch2}^2}$$

+Độ KĐBĐ của bể nhiệt

+Độ KĐBĐ của bể nhiệt ( $u_{bk}$ ) gồm các thành phần sau:

+Độ KĐBĐ chuẩn loại A của bể nhiệt:  $u_{bk1}$

$$u_{bk1} = \sqrt{\frac{\sum_1^N S_j^2}{n}}$$

trong đó:  $S_j$  là độ lệch chuẩn tại điểm đo thứ  $N$ ,  $n$  là số lần đọc tại mỗi điểm đo.

$$S_j = \sqrt{\frac{\sum_1^n (t_i - \bar{t})^2}{(n-1)}}$$

$n$ : số lần đọc tại mỗi điểm,

$t_i$ : lần đọc thứ  $i$  của bể nhiệt,

$\bar{t}$ : nhiệt độ trung bình tại điểm kiểm tra của bể nhiệt.

+Độ KĐBĐ tính theo độ ổn định:  $u_{bk2}$

$$u_{bk2} = \frac{\delta t_{od}}{\sqrt{3}}$$

+Độ KĐBĐ tính theo độ đồng đều  $u_{bk3}$

$$u_{bk3} = \frac{\delta t_{dd}}{\sqrt{3}}$$

+Độ KĐBĐ tính theo độ phân giải của chỉ thị bể nhiệt:  $u_{bk4}$

+Đối với chỉ thị tương tự:

$$u_{bk4} = \frac{d}{10\sqrt{3}}$$

+Đối với chỉ thị hiện số:

$$u_{bk4} = \frac{d}{2\sqrt{3}}$$

trong đó:

$d$ : độ phân giải chỉ thị của bể nhiệt

+Độ KĐBĐ chuẩn liên hợp của bể nhiệt:  $u_{bk}$

$$u_{bk} = \sqrt{u_{bk1}^2 + u_{bk2}^2 + u_{bk3}^2 + u_{bk4}^2}$$

- Độ KĐBĐ tổng hợp  $u_c$

$$u_{\rho_w} u_c = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{bk}^2}$$

- Độ KĐBĐ mở rộng:  $U_{95}$

Tính với mức độ tin cậy 95% C.L.; hệ số phủ  $k = 2$ :

#### 4.1.3. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau hiệu chuẩn
- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định
- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được trả về chế độ cài đặt ban đầu và bàn giao lại thiết bị cho khách hàng.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Tùy theo yêu cầu của khách hàng có thể công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn.
- Đối với khách hàng không có yêu cầu cụ thể về cách đánh giá kết quả hiệu chuẩn thì công bố độ KĐBĐ, độ ổn định, độ đồng đều, số hiệu chính hoặc sai số.

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả hiệu chuẩn.
- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

##### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

- Biểu mẫu Quan trắc gốc
- Biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

##### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Thông tin về mức hiệu chuẩn giữa hợp đồng (phiếu yêu cầu) và thực tế tại cơ sở của khách không khớp. Cần thông báo ngay cho khách hàng và thống nhất lại mức hiệu chuẩn này.
- Các cảm biến chuẩn, dây cảm biến chuẩn hết hạn hiệu chuẩn. Đảm bảo tất cả cảm biến, dây cảm biến sử dụng khi hiệu chuẩn phải còn hạn hiệu chuẩn.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Pin của các cảm biến chuẩn hết pin, dẫn đến không thể tiếp tục quá trình hiệu chuẩn. Phải kiểm tra trình trạng của các cảm biến trước khi tới cơ sở của khách hàng.





- Mất điện tại cơ sở của khách hàng trong quá trình hiệu chuẩn. Thông báo cho khách hàng về tình huống và thống nhất thời điểm tiến hành hiệu chuẩn lại.

### **5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Áp dụng sai mức đánh giá. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

### **6.1. Nội kiểm**

Không áp dụng.

### **6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng**

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- DIN EN 60068-3-5:2002 Environmental testing – Part 3 - 5: Supporting documentation and guidance, Confirmation of the performance of temperature chambers.

- DIN 12880:2007 (parts 1 and 2) Climatic chambers.

- Guideline DKD-R 5-7 Calibration of Climatic Chamber, Edition 07/2004

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 270:  
**HIỆU CHUẨN LÒ NUNG**

## 1. ĐẠI CƯƠNG

### 1.1. Mục đích

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện, điều kiện hiệu chuẩn, trình tự, tính toán xử lý kết quả hiệu chuẩn lò nung nhằm đảm bảo việc hiệu chuẩn luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

### 1.2. Định nghĩa

#### 1.2.3. Giải thích từ ngữ

- Lò nung là thiết bị sử dụng điện để gia nhiệt có hệ thống đo và điều khiển nhiệt độ theo giá trị đặt

- Độ đồng đều ( $\delta T_{dd}$ ) được xác định là sai lệch tối đa của nhiệt độ ở các vị trí đo trong không gian sử dụng của thiết bị (theo tiêu chuẩn DIN EN 60068-3-5).

- Độ ổn định ( $\delta T_{od}$ ) được xác định từ sai lệch nhiệt độ theo thời gian hiệu chuẩn.

#### 1.2.4. Từ viết tắt

- KĐBĐ: Không đảm bảo đo
- Min: Giá trị thấp nhất
- Max: Giá trị cao nhất

### 1.3. Nguyên lý

Nguyên lý sử dụng các cảm biến nhiệt độ có độ chính xác, cấp chính xác tốt hơn lò nung được hiệu chuẩn. Các cảm biến này được đặt trong môi trường nhiệt độ của lò nung trong một khoảng thời gian nhất định sau khi lò nung ổn định ở nhiệt độ cài đặt. So sánh kết quả của các cảm biến chuẩn này với cảm biến nhiệt độ của chính lò nung để đưa ra sai lệch đồng thời tính toán công bố độ KĐBĐ.

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

### 2.2. Vật tư

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

Không áp dụng.

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Bộ hiệu chuẩn nhiệt độ lò nung cảm dây hoặc tương đương
- Dây cảm biến nhiệt độ RTD, K hoặc tương đương
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm, áp suất không dây hoặc tương đương
- Máy tính xách tay và bộ phận kết nối với phần mềm máy tính
- Hệ thống giá lắp, treo cảm biến nhiệt độ

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

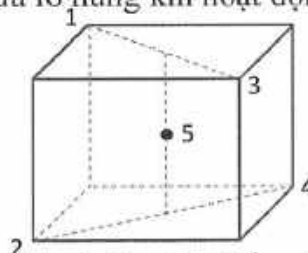
- Loại mẫu: các lò nung được áp dụng của quy trình có nhiệt độ tối đa 1000 °C.
- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu khi khách bàn giao

#### 2.4.2. Xác định mức hiệu chuẩn

- Hiệu chuẩn tại mức khách hàng yêu cầu.
- Trường hợp khách hàng không yêu cầu về mức cụ thể thì tiến hành hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

#### 2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng

- Chuẩn bị các cảm biến nhiệt độ có dây, đặt các dây cảm biến nhiệt độ vào lò nung theo sơ đồ hình 1, rồi đóng kín cửa lò nung khi hoạt động



Hình 1: Vị trí đặt cảm biến nhiệt độ

### 2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn

Không áp dụng.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 7 giờ

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại cơ sở của khách hàng



### 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 4.1. Các bước thực hiện

##### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra đo lường theo trình tự, nội dung, phương pháp và các yêu cầu sau đây:

+Số điểm nhiệt độ kiểm tra phải được chia đều trong dải nhiệt độ cần hiệu chuẩn (hoặc theo yêu cầu của cơ sở sử dụng); kiểm tra từ điểm nhiệt độ thấp đến điểm nhiệt độ cao.

+Các phép đo nhiệt độ được thực hiện khi nhiệt độ của lò nung đã ổn định trong 10 phút.

+Trình tự kiểm tra tại mỗi điểm nhiệt độ: Đặt nhiệt độ của lò nung tương ứng với giá trị nhiệt độ đầu tiên cần kiểm tra. Cài đặt chế độ chạy cho cảm biến nhiệt độ chuẩn: thời gian bắt đầu chạy, thời gian lấy mẫu theo, thời gian lấy mẫu được cài đặt là 1 phút/1 lần. Bố trí các cảm biến nhiệt độ chuẩn vào trong tủ như quy định ở mục 2.4.3.

+Sau khi nhiệt độ trong thiết bị đã ổn định, đọc số chỉ nhiệt độ của bộ hiển thị lò nung và ghi các giá trị này vào trong Biên bản hiệu chuẩn lò nung. Số lượt đọc tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra không ít hơn 3 lần và phải đảm bảo có các giá trị Min, Max, trung bình của một chu trình.

+Lần lượt tiến hành đo tương tự đối với các điểm nhiệt độ kiểm tra tiếp theo cho đến điểm nhiệt độ kiểm tra cuối cùng.

##### 4.1.2. Tính toán độ KĐBĐ

###### a) Tính số hiệu chỉnh của lò nung

- Số hiệu chỉnh của lò nung tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra được tính theo công thức:

$$\Delta t = \overline{t_{ch}} - \overline{t_{tn}}$$

trong đó:

$$\overline{t_{ch}} = \frac{1}{k} \sum_{j=1}^k \bar{t}_j$$

-  $\bar{t}_j$ : giá trị trung bình của mỗi cảm biến nhiệt độ chuẩn (chỉ thị chuẩn), tính theo công thức:

$$\bar{t}_j = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (t_i - \partial t_j)_i$$

với:

$\partial t_j$ : số hiệu chỉnh của cảm biến chuẩn thứ j tại điểm nhiệt độ kiểm tra (xem trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn).

n: số lần đo của mỗi cảm biến nhiệt độ chuẩn tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra.

$\overline{t_{tn}}$ : Giá trị trung bình của chỉ thị lò nung tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra, tính theo công thức:

$$\overline{t_{tn}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i$$

*Ghi chú:* Số hiệu chính của lò nung ( $\Delta t$ ) tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra không được vượt quá giá trị sai số tương ứng với độ chính xác của lò nung.

b) *Tính độ ổn định của lò nung*

- Độ ổn định của lò nung tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{od} = \pm \frac{1}{2} \max (t_{\max,j} - t_{\min,j}) \quad j: 1, 2, \dots, k$$

trong đó:

$\delta t_{od}$ : độ ổn định của lò nung tại nhiệt độ kiểm tra.

$t_{\max,j}$ ;  $t_{\min,j}$ : nhiệt độ cao nhất và thấp nhất của cảm biến nhiệt độ chuẩn thứ j tại điểm nhiệt độ kiểm tra.

c) *Tính độ đồng đều của lò nung*

- Độ đồng đều của lò nung tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{dd} = \pm \frac{1}{2} [t_{\max} - t_{\min}]$$

trong đó:

$\delta t_{dd}$ : độ đồng đều của lò nung.

$t_{\max}$ ,  $t_{\min}$ : Nhiệt độ lớn nhất và nhỏ nhất trong k cảm biến nhiệt độ chuẩn.

d) *Ước lượng độ KĐBĐ*

- Độ KĐBĐ tổng hợp của phép hiệu chuẩn lò nung được xác định theo công thức:

$$u_c = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{bk}^2}$$

trong đó:

$u_{ch}$ : Độ KĐBĐ của tổ hợp chuẩn

$u_{bk}$ : Độ KĐBĐ của lò nung

+ĐKĐBĐ của tổ hợp chuẩn

Độ KĐBĐ của tổ hợp chuẩn ( $u_{ch}$ ) gồm các thành phần sau:

+Độ KĐBĐ chuẩn loại A của chỉ thị các cảm biến nhiệt độ chuẩn ( $u_{ch1}$ )

+Độ KĐBĐ của tổ hợp chuẩn, gồm thiết bị chỉ thị đo với các cảm biến nhiệt độ chuẩn:  $u_{ch2}$

+Độ KĐBĐ chuẩn liên hợp của tổ hợp chuẩn:  $u_{ch}$

$$u_{ch} = \sqrt{u_{ch1}^2 + u_{ch2}^2}$$

+Độ KĐBĐ của lò nung

+Độ KĐBĐ của lò nung ( $u_{bk}$ ) gồm các thành phần sau:

+Độ KĐBĐ chuẩn loại A của lò nung:  $u_{bk1}$

$$u_{bk1} = \sqrt{\frac{\sum_1^N S_j^2}{n}}$$

trong đó:  $S_j$  là độ lệch chuẩn tại điểm đo thứ  $N$ ,  $n$  là số lần đọc tại mỗi điểm đo.

$$S_j = \sqrt{\frac{\sum_1^n (t_i - \bar{t})^2}{(n-1)}}$$

$n$ : số lần đọc tại mỗi điểm,

$t_i$ : lần đọc thứ  $i$  của lò nung,

$\bar{t}$ : nhiệt độ trung bình tại điểm kiểm tra của lò nung.

+Độ KĐBĐ tính theo độ ổn định:  $u_{bk2}$

$$u_{bk2} = \frac{\delta t_{od}}{\sqrt{3}}$$

+Độ KĐBĐ tính theo độ đồng đều  $u_{bk3}$

$$u_{bk3} = \frac{\delta t_{dd}}{\sqrt{3}}$$

+Độ KĐBĐ tính theo độ phân giải của chỉ thị lò nung:  $u_{bk4}$

+Đối với chỉ thị tương tự:

$$u_{bk4} = \frac{d}{10\sqrt{3}}$$

+Đối với chỉ thị hiện số:

$$u_{bk4} = \frac{d}{2\sqrt{3}}$$

trong đó:

$d$ : độ phân giải chỉ thị của lò nung

+Độ KĐBĐ chuẩn liên hợp của lò nung:  $u_{bk}$

$$u_{bk} = \sqrt{u_{bk1}^2 + u_{bk2}^2 + u_{bk3}^2 + u_{bk4}^2}$$

- Độ KĐBĐ tổng hợp  $u_c$

$$u_{\rho_w} u_c = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{bk}^2}$$

- Độ KĐBĐ mở rộng:  $U_{95}$

Tính với mức độ tin cậy 95% C.L.; hệ số phủ  $k = 2$ :

$$U_{95} = 2 u_c$$

#### 4.1.3. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau hiệu chuẩn.



- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định
- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được trả về chế độ cài đặt ban đầu và bàn giao lại thiết bị cho khách hàng.

#### **4.2. Nhận định kết quả**

- Tùy theo yêu cầu của khách hàng có thể công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn.

- Đối với khách hàng không có yêu cầu cụ thể về cách đánh giá kết quả hiệu chuẩn thì công bố độ KĐBĐ, độ ổn định, độ đồng đều, số hiệu chính hoặc sai số.

#### **4.3. Trả kết quả lưu trữ hồ sơ**

##### **4.3.1. Trả kết quả**

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả hiệu chuẩn.
- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

##### **4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu**

- Biểu mẫu Quan trắc gốc
- Biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

##### **4.3.3. Hồ sơ**

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

### **5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

#### **5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật**

- Thông tin về mức hiệu chuẩn giữa hợp đồng (phiếu yêu cầu) và thực tế tại cơ sở của khách không khớp. Cần thông báo ngay cho khách hàng và thống nhất lại mức hiệu chuẩn này.
- Các cảm biến chuẩn, dây cảm biến chuẩn hết hạn hiệu chuẩn. Đảm bảo tất cả cảm biến, dây cảm biến sử dụng khi hiệu chuẩn phải còn hạn hiệu chuẩn.

#### **5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Pin của các cảm biến chuẩn hết pin, dẫn đến không thể tiếp tục quá trình hiệu chuẩn. Phải kiểm tra trình trạng của các cảm biến trước khi tới cơ sở của khách hàng.
- Mất điện tại cơ sở của khách hàng trong quá trình hiệu chuẩn. Thông báo cho khách hàng về tình huống và thống nhất thời điểm tiến hành hiệu chuẩn lại.

#### **5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Áp dụng sai mức đánh giá. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả
- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

### **6.1. Nội kiểm**

Không áp dụng.

### **6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng**

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- DIN EN 60068-3-5:2002 Environmental testing – Part 3-5: Supporting documentation and guidance, Confirmation of the performance of temperature chambers
- DIN 12880 (parts 1 and 2) Climatic chambers
- Guideline DKD-R 5-7 Calibration of Climatic Chamber
- Quy trình hiệu chuẩn lò nung VMI – CP17: 2013



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 271:  
HIỆU CHUẨN NHIỆT KẾ ĐIỆN TỬ**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này quy định phương pháp, phương tiện, điều kiện hiệu chuẩn, trình tự, tính toán xử lý kết quả hiệu nhiệt kế điện tử nhằm đảm bảo việc hiệu chuẩn luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

### **1.2. Định nghĩa**

#### 1.2.1. Giải thích từ ngữ

- **Nhiệt kế điện tử**: là thiết bị sử dụng điện để đo nhiệt độ, cấu tạo gồm hai bộ phận: Cảm biến nhiệt độ và Bộ phận hiển thị; hiển thị số hoặc cơ.

#### 1.2.2. Từ viết tắt

- KĐBD: Không đảm bảo đo

### **1.3. Nguyên lý**

Sử dụng một thiết bị tạo môi trường nhiệt độ với độ ổn định cao, sử dụng cảm biến nhiệt độ với độ chính xác cao cùng nhiệt kế được hiệu chuẩn vào đó. So sánh kết quả của nhiệt kế được hiệu chuẩn với cảm biến nhiệt độ chuẩn để đưa ra sai lệch đồng thời tính toán công bố độ KĐBD.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

- Tiệt trùng, khử nhiễm: trình độ tối thiểu 12/12, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư**

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

Không áp dụng.

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Môi chất chuyên dụng.
- Trang bị bảo hộ cá nhân



- Vật tư, hóa chất tiết trùng, khử nhiễm PTN
  - Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...
- Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Lò/bể chuẩn nhiệt độ hoặc tương đương
- Cảm biến nhiệt độ chuẩn và đầu đọc cảm biến nhiệt độ chuẩn hoặc tương đương
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm, áp suất không dây hoặc tương đương
- Hệ thống giá lắp, treo cảm biến

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Loại mẫu: các loại nhiệt kế điện tử có phạm vi đo trong khoảng từ - 40 °C đến 400 °C. Các loại nhiệt kế lưỡng kim, nhiệt kế áp suất (khí, chất lỏng hoặc hơi bão hòa), nhiệt kế đo nhiệt độ bề mặt, các loại nhiệt kế chỉ thị và tự ghi nhiệt độ, nhiệt kế đo và điều khiển nhiệt độ.

- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu khi khách bàn giao

#### 2.4.2. Xác định mức hiệu chuẩn

- Hiệu chuẩn tại mức khách hàng yêu cầu.
- Trường hợp khách hàng không yêu cầu về mức cụ thể thì tiến hành hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

#### 2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng

- Trước khi tiến hành hiệu chuẩn phải thực hiện các công việc chuẩn bị sau đây:
  - +Làm vệ sinh sạch sẽ phương tiện cần hiệu chuẩn.
  - +Giá lắp, đầu nối dây theo đúng yêu cầu kỹ thuật.
  - +Lựa chọn và chuẩn bị tổ hợp chuẩn phù hợp với nhiệt kế cần hiệu chuẩn.

### 2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn

Không áp dụng.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 7 giờ

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại phòng hiệu chuẩn có các yêu cầu về điều kiện như sau:
  - +Nhiệt độ môi trường:  $(23 \pm 2)$  °C;
  - +Độ ẩm môi trường: không lớn hơn 50 %RH.

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

##### a) Kiểm tra kỹ thuật

Phải kiểm tra kỹ thuật theo các yêu cầu sau đây:

- Các nhiệt kế cần hiệu chuẩn phải thoả mãn các yêu cầu sau: đối với nhiệt kế chỉ thị hiện số, các số hiển thị phải rõ nét, không bị mờ hoặc mất nét, các chức năng hoạt động bình thường; đối với nhiệt kế chỉ thị tương tự, vạch chia độ phải còn đầy đủ, không bị nhoè, mất chữ số, kim chỉ thị không bị ma sát hoặc kẹt kim.

- Chỉ thị nhiệt độ môi trường của nhiệt kế cần hiệu chuẩn phải bình thường theo đúng tính năng của mỗi loại nhiệt kế.

##### b) Kiểm tra đo lường

Nhiệt kế điện tử được kiểm tra đo lường theo trình tự nội dung, phương pháp và yêu cầu sau đây:

##### c) Quy định chung

- Kiểm tra đo lường được thực hiện bằng cách so sánh: số chỉ của nhiệt kế cần hiệu chuẩn tại mỗi điểm kiểm tra được so sánh với giá trị nhiệt độ "thực" được xác định bởi tổ hợp chuẩn.

- Số điểm kiểm tra phải được chia đều trong dải nhiệt độ cần hiệu chuẩn và không ít hơn ba điểm; hiệu chuẩn từ điểm thấp đến điểm cao nhất (phải hiệu chuẩn điểm  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  đầu tiên đối với loại nhiệt kế có chia độ ở điểm  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) và ngược lại.

##### d) Chuẩn bị kiểm tra

- Chuẩn bị điểm  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  (nếu nhiệt kế cần hiệu chuẩn có chia độ ở điểm  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

- Vận hành tổ hợp chuẩn theo đúng hướng dẫn sử dụng thiết bị.

- Gá lắp nhiệt kế chuẩn, nhiệt kế cần hiệu chuẩn vào các bình điều nhiệt, lò hiệu chuẩn theo đúng yêu cầu kỹ thuật.

##### e) Trình tự kiểm tra tại một điểm

- Đặt nhiệt độ của thiết bị tạo môi trường ứng với giá trị nhiệt độ cần kiểm tra.

- Khi nhiệt độ ổn định (giá trị chỉ thị bằng giá trị đặt), để ổn định ít nhất 10 phút, đọc số chỉ nhiệt độ của chuẩn và nhiệt kế cần hiệu chuẩn. Trình tự đọc theo thứ tự:

Chuẩn  $\rightarrow N_1 \rightarrow N_2 \rightarrow N_3 \rightarrow \dots \dots \rightarrow N_n \rightarrow$  Chuẩn

Trong đó:  $N_j$ ,  $N_2$  là nhiệt kế cần hiệu chuẩn; quá trình đọc số chỉ từ nhiệt kế chuẩn đến nhiệt kế thứ  $N_n$  và đọc trở về đến nhiệt kế chuẩn là một lượt đọc. Số lượt đọc tại mỗi điểm kiểm tra không ít hơn 3 lần.

- Lần lượt tiến hành đo như mục 4.1.1 đối với các điểm kiểm tra tiếp theo.

- Hiệu chuẩn theo chiều giảm nhiệt độ, từ điểm cao nhất đến điểm thấp nhất trong dải nhiệt độ cần hiệu chuẩn, trình tự tiến hành đo như mục 10.2.3.3.3; độ hồi trễ (hồi sai) của nhiệt kế cần hiệu chuẩn sẽ được tính tại điểm hiệu chuẩn nào có giá trị trung



binh sai lệch lớn nhất theo chiều hiệu chuẩn tăng và giảm nhiệt độ.

#### 4.1.2. Tính toán độ KĐBĐ

##### a) *Tính Độ KĐBĐ $u_{ch}$*

Tính toán độ KĐBĐ này phụ thuộc vào các độ KĐBĐ thành phần của tổ hợp thiết bị chuẩn sử dụng, bao gồm nhiệt kế chuẩn; thiết bị chỉ thị chuẩn và thiết bị tạo môi trường nhiệt độ... Tính toán được suy từ các độ không đảm bảo mở rộng của mỗi loại thiết bị chuẩn, gồm các thành phần sau:

##### Độ KĐBĐ của nhiệt kế chuẩn: $u_{ch1}$ (loại B)

Thành phần này lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn, tính từ độ KĐBĐ mở rộng U (theo mức độ tin cậy chất lượng P % và hệ số phủ k), tính theo công thức:

$$u_{ch1} = U/k$$

##### Độ KĐBĐ của thiết bị chỉ thị chuẩn: $u_{ch2}$ (loại B)

Thành phần này lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn, tính từ độ KĐBĐ mở rộng U (theo mức độ tin cậy chất lượng P% và hệ số phủ k), tính theo công thức:

$$u_{ch2} = U/k$$

##### Độ KĐBĐ của thiết bị tạo môi trường nhiệt độ: $u_{ch3}$ (loại B)

- Thành phần này được tính từ tổ hợp hai thành phần độ KĐBĐ của thiết bị theo độ ổn định  $\delta t_1$  và độ đồng đều  $\delta t_2$ , tính theo công thức:

$$u_{ch3} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2}$$

- Trong đó:

$$u_1 = \pm \delta t_1 / \sqrt{3}$$

$$u_2 = \pm \delta t_2 / \sqrt{3}$$

##### Độ KĐBĐ do độ tán mạn của các kết quả đo của tổ hợp thiết bị chuẩn: $u_{ch4}$ (loại A)

A)

Thành phần này được tính theo độ không đảm bảo chuẩn loại A, từ các thành phần sau:

- Tính độ lệch chuẩn  $s_i$

- Tính độ lệch chuẩn lũy tích u:

$$u = (\sum s_i^2 / N)^{1/2}, \text{ với } N: \text{ số điểm kiểm tra}$$

- Tính độ không đảm bảo chuẩn loại A:

$$u_{ch4} = u_A = u/\sqrt{n}, \text{ với } n: \text{ số lần đo tại mỗi điểm kiểm tra}$$

Thành phần này chính là độ KĐBĐ theo độ tán mạn kết quả đo.

Độ KĐBĐ chuẩn liên hợp của tổ hợp chuẩn do các thành phần độ KĐBĐ trên, được tính theo công thức:

$$u_{ch} = \sqrt{u_{ch1}^2 + u_{ch2}^2 + u_{ch3}^2 + u_{ch4}^2}$$



b) *Độ KĐBĐ  $u_{bk}$* 

Độ KĐBĐ do độ hồi trễ của nhiệt kế cần hiệu chuẩn:  $u_{bk1}$  (loại B)

- Thành phần này được tính từ độ hồi trễ (hồi sai) lớn nhất  $A_{\max}$  tại điểm hiệu chuẩn có sai lệch giá trị trung bình lớn nhất theo chiều hiệu chuẩn tăng và giảm nhiệt độ, tính theo công thức:

$$u_{bk1} = \pm A_{\max} / \sqrt{3}$$

- Trong đó:  $A_{\max} = | \overline{t_{bk}} \text{ (chiều tăng)} - \overline{t_{bk}} \text{ (chiều giảm)} |$

Độ KĐBĐ do độ tản mạn của các kết quả đo từ chỉ thị của nhiệt kế cần hiệu chuẩn:  $u_{bk2}$  (loại A)

Thành phần này được tính theo độ không đảm bảo chuẩn loại A, từ các thành phần sau:

- Tính độ lệch chuẩn  $S_j$

- Tính độ lệch chuẩn lũy tích  $u$ :

$$u = (\sum s_i^2 / N)^{1/2}, \text{ với } N: \text{ số điểm kiểm tra}$$

- Tính độ không đảm bảo chuẩn loại A:

$$u_{bk2} = u_A = u / \sqrt{n}, \text{ với } n: \text{ số lần đo tại mỗi điểm kiểm tra}$$

Thành phần này chính là độ KĐBĐ theo độ tản mạn kết quả đo.

Độ KĐBĐ theo độ phân giải của nhiệt kế cần hiệu chuẩn:  $u_{bk3}$  (loại B)

Thành phần này tính từ khả năng phân giải nhỏ nhất của nhiệt kế, kí hiệu là  $d$ , tính theo công thức:

$$u_{bk3} = (A \cdot d) / \sqrt{3}$$

Trong đó:

$A$  : giá trị nhỏ nhất của chỉ thị của nhiệt kế cần hiệu chuẩn;

$d = 1/2$  (1/2 digit) đối với nhiệt kế chỉ thị hiện số;

$d = 1/10$  đối với nhiệt kế chỉ thị tương tự.

Độ KĐBĐ liên hợp của nhiệt kế cần hiệu chuẩn do các thành phần độ KĐBĐ trên, được tính theo công thức:

$$u_{bk} = \sqrt{u_{bk1}^2 + u_{bk2}^2 + u_{bk3}^2}$$

c) *Độ KĐBĐ chuẩn liên hợp của phép hiệu chuẩn  $u_c$* 

$$u_c = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{bk}^2}$$

d) *Độ KĐBĐ mở rộng*

$$U = 2 \cdot u_c, \text{ (Tính với mức độ tin cậy 95 \% ; hệ số } k = 2)$$

Thành phần này chính là độ KĐBĐ của kết quả hiệu chuẩn nhiệt kế và được đưa vào chứng chỉ hiệu chuẩn cùng với kết quả hiệu chuẩn.

#### 4.1.3. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau hiệu chuẩn.
- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định
- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được trả về chế độ cài đặt ban đầu, dán tem và bàn giao lại cho khách hàng.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Tùy theo yêu cầu của khách hàng có thể công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn.
- Đối với khách hàng không có yêu cầu cụ thể về cách đánh giá kết quả hiệu chuẩn thì công bố độ KĐBĐ, số hiệu chính hoặc sai số.

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả hiệu chuẩn.
- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

##### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

- Biểu mẫu Quan trắc gốc
- Biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

##### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

### 5. Những sai sót và xử trí

#### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Phòng hiệu chuẩn chưa ổn định về nhiệt độ, độ ẩm. Phải chờ đến khi điều kiện phòng hiệu chuẩn đạt điều kiện mới được tiến hành hiệu chuẩn
- Cần xác nhận tình trạng thiết bị của khách hàng (hoạt động, pin) ngay khi nhận bàn giao.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Mất điện trong quá trình hiệu chuẩn. Phải tiến hành hiệu chuẩn lại từ đầu.

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả
- Áp dụng sai mức đánh giá. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

**6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng**

**6.1. Nội kiểm**

Không áp dụng.

**6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng**

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

**7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Quy trình hiệu chuẩn nhiệt kế chỉ thị hiện số và tương tự ĐLVN 138:2004



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 272:  
**HIỆU CHUẨN MÁY ĐỌC ELISA**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện, điều kiện hiệu chuẩn, trình tự, tính toán xử lý kết quả hiệu chuẩn máy đọc ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) nhằm đảm bảo việc hiệu chuẩn luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

- Máy đọc ELISA là một thiết bị được sử dụng để đọc kết quả của xét nghiệm elisa. Máy đọc ELISA hoạt động dựa trên nguyên lý đo lường độ hấp thụ ánh sáng của một mẫu lỏng sau khi được phản ứng với một enzyme có khả năng phát quang. Máy đọc ELISA có thể đo lường độ hấp thụ ánh sáng ở nhiều bước sóng khác nhau, từ bước sóng gần siêu violet tới bước sóng gần hồng ngoại. Máy đọc ELISA có thể đọc kết quả của nhiều mẫu cùng một lúc, thường là 96 hoặc 384 mẫu trên một khay.

- Xét nghiệm ELISA là một phương pháp phân tích sinh học phân tử dựa trên phản ứng miễn dịch giữa kháng nguyên và kháng thể. Xét nghiệm elisa có thể đo lường nồng độ của một chất cụ thể trong một mẫu lỏng, ví dụ như máu, nước tiểu, nước bọt, v.v. Xét nghiệm ELISA có nhiều ứng dụng trong y học, chẳng hạn như chẩn đoán bệnh nhiễm trùng, dị ứng, ung thư, tiểu đường, HIV, v.v.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- KĐBĐ: Không đảm bảo đo
- ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay

### **1.3. Nguyên lý**

Sử dụng phiên chuẩn để hiệu chuẩn máy đọc ELISA bằng cách so sánh kết quả của máy đọc với bảng chuẩn để đưa ra sai lệch đồng thời tính toán công bố độ KĐBĐ.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khỏi ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khỏi ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

**2.2. Vật tư****2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

Không áp dụng.

**2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Dung dịch khử trùng
- Tem hiệu chuẩn
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

**2.3. Thiết bị**

- Phiến chuẩn máy đọc ELISA

**2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu****2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận**

- Loại mẫu: : các loại máy đọc ELISA có phạm vi đo (298 ÷ 865) nm.
- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu khi khách bàn giao

**2.4.2. Xác định mức hiệu chuẩn**

- Hiệu chuẩn tại mức khách hàng yêu cầu.
- Trường hợp khách hàng không yêu cầu về mức cụ thể thì tiến hành hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

**2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng**

Sử dụng phiến chuẩn tương thích với máy cần hiệu chuẩn

**2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn**

Không áp dụng.

**2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 6 giờ

**2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Tại cơ sở của khách hàng

**3. AN TOÀN**

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

- Bước 1: Cài đặt chế độ đọc bước sóng đơn
- Bước 2: Chọn bước sóng cần hiệu chuẩn
- Bước 3: Tiến hành đọc kết quả
- Bước 4: Ghi nhận kết quả đo của máy đọc vào Biên bản hiệu chuẩn máy đọc

#### ELISA

- Bước 5: Thực hiện 5 lần phép đo với từng bước sóng
- Bước 6: Thực hiện tương tự từ bước 1 đến bước 5 với các bước sóng khác

#### 4.1.2. Xác định các thông số cơ bản và ước lượng độ KĐBĐ

##### a) Xác định giá trị thực của UUC

Giá trị thực của UUC được tính bởi công thức:

$$R_t = (R_1 + R_2 + R_3)/3 + \Delta R_{cal}$$

trong đó:

$R_t$  = giá trị thực của UUC tại mỗi giếng, OD

$R_{1,2,3}$  = giá trị đo được bởi chuẩn lần 1, 2, 3, tại mỗi giếng ở từng bước sóng, OD.

$\Delta R_{cal}$  = số hiệu chỉnh tại mỗi giếng tương ứng của phiên chuẩn (nếu có)

##### b) Xác định số hiệu chỉnh

Sai số của UUC được tính bởi công thức:

$$R_{ss} = R_t - R_s$$

trong đó:  $R_s$  = giá trị chuẩn ở mỗi giếng của phiên chuẩn ứng với từng bước sóng, OD.

##### c) Tính độ KĐBĐ loại A của UUC

- Tính giá trị đo trung bình của UUC:  $\bar{r} = \sum_{i=1}^3 \frac{r_i}{3}$

- Tính độ lệch chuẩn:

$$S_i = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^3 (r_i - \bar{r})^2}{3 - 1}}$$

- Độ KĐBĐ loại A:

$$u_A = \frac{S_i}{\sqrt{3}}$$

##### d) Tính độ ĐKĐBĐ loại B

- Độ KĐBĐ loại B:



$$u_B = \frac{b}{2\sqrt{3}} ($$

trong đó: b là độ phân giải của UUC; phân bố hình chữ nhật)

e) *Tính độ KĐBĐ của phép hiệu chuẩn*

$$u_{cr} = \sqrt{u_A^2 + u_B^2}$$

f) *Tính độ KĐBĐ của chuẩn*

$$u_{ch} = \frac{U_{ch}}{2}$$

$U_{ch}$  được lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn

g) *Tính độ KĐBĐ tổng hợp*

$$u_c = \sqrt{u_{cr}^2 + u_{ch}^2}$$

h) *Tính độ KĐBĐ mở rộng*

$$U = k \times u_c, \text{ Với: } k=2; \text{ mức độ tin cậy 95\% C.L}$$

#### 4.1.3. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau hiệu chuẩn.
- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định
- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được trả về chế độ cài đặt ban đầu và bàn giao lại thiết bị cho khách hàng.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Tùy theo yêu cầu của khách hàng có thể công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn.
- Đối với khách hàng không có yêu cầu cụ thể về cách đánh giá kết quả hiệu chuẩn thì công bố độ KĐBĐ, số hiệu chính hoặc sai số.

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả hiệu chuẩn.
- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

##### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

- Biểu mẫu Quan trắc gốc
- Biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

##### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

## **5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật**

- Thông tin về chủng loại máy chưa chính xác có thể dẫn đến sử dụng sai phiên chuẩn. Cần làm rõ với khách hàng về chủng loại máy cần hiệu chuẩn.

### **5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Kẹt phiên chuẩn trong máy của khách hàng. Kiểm tra hướng dẫn sử dụng của máy đọc ELISA của khách hàng để có những khắc phục cần thiết.

- Lỗi phần mềm máy tính. Cần báo cho khách hàng về tình huống này và yêu cầu khách hàng cài đặt lại phần mềm trước khi tiến hành hiệu chuẩn lại.

### **5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Áp dụng sai mức đánh giá. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

### **6.1. Nội kiểm**

Không áp dụng.

### **6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng**

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

WHO's Maintenance manual for laboratory equipment – 2<sup>nd</sup> edition 2008 WHO

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 273:  
HIỆU CHUẨN KHO LẠNH**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện, điều kiện hiệu chuẩn, trình tự, tính toán xử lý kết quả hiệu chuẩn kho lạnh nhằm đảm bảo việc hiệu chuẩn luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

- Độ đồng đều ( $\delta T_{dd}$ ) được xác định là sai lệch tối đa của nhiệt độ ở các vị trí đo trong không gian sử dụng của thiết bị (theo tiêu chuẩn DIN EN 60068-3-5).

- Độ ổn định ( $\delta T_{od}$ ) được xác định từ sai lệch nhiệt độ theo thời gian hiệu chuẩn.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- KĐBD: Không đảm bảo đo
- EDLMs: Các bộ tự ghi dữ liệu

### **1.3. Nguyên lý**

Quy trình này dựa trên nguyên lý hiệu chuẩn từ nhiệt, từ lạnh nhưng thời gian và cách bố trí EDLMs thì tuân thủ theo hướng dẫn của WHO – Supplement 8.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

### **2.2. Vật tư**

#### **2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

Không áp dụng.

#### **2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Pin chuyên dụng cho cảm biến
- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN



- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Cảm biến nhiệt độ không dây hoặc tương đương
- Bộ hiệu chuẩn nhiệt độ từ nhiệt cảm dây hoặc tương đương
- Dây cảm biến nhiệt độ RTD, K hoặc tương đương
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm, áp suất không dây hoặc tương đương
- Máy tính xách tay và bộ phận kết nối với phần mềm máy tính
- Hệ thống giá lắp, treo cảm biến nhiệt độ

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Loại mẫu: các kho lạnh, buồng lạnh với nhiệt độ làm việc từ  $(-40 \div 10) ^\circ\text{C}$ .
- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu (kho) khi khách bàn giao.

#### 2.4.2. Xác định mức hiệu chuẩn

- Hiệu chuẩn tại mức khách hàng yêu cầu.
- Trường hợp khách hàng không yêu cầu về mức cụ thể thì tiến hành hiệu chuẩn theo hướng dẫn của WHO – Supplement 8.

#### 2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng

- Tất cả còn trong thời hạn hiệu chuẩn.
- Được hiệu chuẩn tối thiểu ở 3 điểm nhiệt độ (NIST-traceable 3-point).
- Sai số ở mỗi điểm hiệu chuẩn không vượt quá  $\pm 0.5 ^\circ\text{C}$ .
- Dải hiệu chuẩn của cảm biến phải phủ được dải nhiệt độ của kho lạnh.
- Để đảm bảo độ ổn định, chỉ dùng một loại cảm biến
- Có thể sử dụng logger thích hợp để theo dõi việc mở cửa kho, cài đặt chương trình cho cảm biến sao cho các giá trị nhiệt độ ghi lại trên thiết bị có thể nhận ra thời điểm mở cửa

- Sử dụng kết quả khảo sát để đánh dấu các vị trí đặt EDLM. Những vị trí có nguy cơ bất ổn nên được đưa vào danh sách các vị trí đặt EDLM. Tuy nhiên, hướng dẫn sau sẽ giúp xác định được số lượng và vị trí EDLM đòi hỏi.

- Theo chiều dài và chiều rộng: các EDLM cần được sắp xếp theo phân bố dạng lưới dọc theo chiều dài và chiều rộng mặt phẳng, các logger được đặt cách nhau 5-10 mét (đối với các diện tích rất rộng, khoảng cách này có thể lên đến 20-30 mét). Lựa chọn ma trận vị trí cảm biến cần theo các điều khoản sau:

- Theo bản vẽ mặt bằng (ví dụ vị trí góc phòng, vị trí góc bị thụt vào)
- Các tọa độ mà giá và sản phẩm bảo quản ảnh hưởng đến dòng khí.

- Nơi đặt sản phẩm, vị trí của các EDLMs nên trùng với vị trí các sản phẩm thực tế đặt khi bảo quản hoặc được xác định đặt khi bảo quản.

- Theo chiều cao ở mỗi điểm trong ma trận, sắp xếp các EDLMs theo chiều thẳng đứng theo các tiêu chí sau:

+Nếu trần cao 3,6 m hoặc thấp hơn, đặt các EDLM ở 3 vị trí: cao, giữa và thấp.

+Nếu trần cao hơn 3,6 m, đặt 1 điểm ở dưới, nhiều điểm ở giữa và 1 điểm ở trên cùng.

+Ví dụ trần cao 6 m, đặt ở các vị trí: 0,3 m; 1,8 m; 3,6 m và 5,4 m. Một số vị trí bổ sung thêm EDLMs:

+Ngay phía trước của lưới tản khí lạnh

+Vị trí gần các đơn vị làm mát và sưởi ấm

## **2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn**

Không áp dụng.

## **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Tùy vào thỏa thuận với khách hàng về thời gian hiệu chuẩn kho lạnh là 24, 48, 72 giờ thì tổng số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc) lần lượt là: 29, 53, 77 giờ

## **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Tại cơ sở của khách hàng

## **3. AN TOÀN**

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## **4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **4.1. Các bước thực hiện**

#### **4.1.1. Thực hiện kỹ thuật**

- Ghi thông tin các EDLMs, các cảm biến theo dõi nhiệt độ và các vị trí điều khiển nhiệt độ.

- Cài đặt khoảng thời gian của các EDLMs giống nhau, có thể cài đặt trong khoảng 1 đến 15 phút.

- Cố định EDLMs

- Cho các EDLMs chạy trong 24 đến 72 giờ tùy thỏa thuận với khách hàng

- Sau khi kết thúc hiệu chuẩn, đối chiếu lại lần nữa serial của các EDLM ở các vị trí đặt với bản ghi chú vị trí lúc bắt đầu

- Kết nối các EDLMs với máy tính để tải dữ liệu

## 4.1.2. Tính toán độ KĐBD

a) *Xác định các thông số cơ bản và đặc trưng của kho lạnh*

Xác định số hiệu chính của thiết bị

- Số hiệu chính của kho lạnh tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra được tính theo công thức:

$$\Delta t = \overline{t_{ch}} - \overline{t_{bn}}$$

trong đó:

$$\overline{t_{ch}} = \frac{1}{k} \sum_{j=1}^k \overline{t_j}$$

 $\overline{t_j}$ : giá trị trung bình của mỗi nhiệt kế chuẩn (chỉ thị chuẩn), tính theo công thức:

$$\overline{t_j} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (t_i - \partial t_j)_i$$

với:

 $\partial t_j$ : số hiệu chính của nhiệt kế chuẩn thứ j tại điểm nhiệt độ kiểm tra (xem trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn).

n: số lần đo của mỗi nhiệt kế chuẩn tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra.

 $\overline{t_{bn}}$ : Giá trị trung bình của chỉ thị kho lạnh tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra, tính theo công thức:

$$\overline{t_{bn}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i$$

*Ghi chú:* Số hiệu chính của kho lạnh ( $\Delta t$ ) tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra không được vượt quá giá trị sai số tương ứng với độ chính xác của kho lạnh.

Xác định độ ổn định của kho lạnh

- Độ ổn định của kho lạnh tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{od} = \pm \frac{1}{2} \max (t_{\max,j} - t_{\min,j}) \quad j: 1, 2, \dots, k$$

trong đó:

 $\delta t_{od}$ : độ ổn định của kho lạnh tại nhiệt độ kiểm tra. $t_{\max,j}$ ;  $t_{\min,j}$ : nhiệt độ cao nhất và thấp nhất của nhiệt kế chuẩn thứ j tại điểm nhiệt độ kiểm tra.

Xác định độ đồng đều của kho lạnh

- Độ đồng đều của kho lạnh tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{dd} = \pm \frac{1}{2} [t_{\max} - t_{\min}]$$

trong đó:

 $\delta t_{dd}$ : độ đồng đều của kho lạnh. $t_{\max}$ ,  $t_{\min}$ : Nhiệt độ lớn nhất và nhỏ nhất trong k nhiệt kế.



b) *Ước lượng độ KĐBĐ*

Độ không đảm bảo đo của tổ hợp chuẩn

Độ KĐBĐ của tổ hợp chuẩn ( $u_{ch}$ ) gồm các thành phần sau:

- Độ KĐBĐ chuẩn loại A của chỉ thị các nhiệt kế chuẩn ( $u_{ch1}$ )
- Độ KĐBĐ của tổ hợp chuẩn, gồm thiết bị chỉ thị đo với các nhiệt kế chuẩn:  $u_{ch2}$
- . Độ KĐBĐ chuẩn liên hợp của tổ hợp chuẩn:  $u_{ch}$

$$u_{ch} = \sqrt{u_{ch1}^2 + u_{ch2}^2}$$

- Độ không đảm bảo đo của kho lạnh. Độ KĐBĐ của kho lạnh ( $u_{bk}$ ) gồm các thành phần sau:

+Độ KĐBĐ chuẩn loại A của kho lạnh:  $u_{bk1}$

$$u_{bk1} = \sqrt{\frac{\sum_1^N S_j^2}{n}}$$

trong đó:  $S_j$  là độ lệch chuẩn tại điểm đo thứ N, n là số lần đọc tại mỗi điểm đo.

$$S_j = \sqrt{\frac{\sum_1^n (t_i - \bar{t})^2}{(n-1)}}$$

n: số lần đọc tại mỗi điểm,

$t_i$ : lần đọc thứ i của kho lạnh,

$\bar{t}$ : nhiệt độ trung bình tại điểm kiểm tra của kho lạnh.

+Độ KĐBĐ tính theo độ ổn định:  $u_{bk2}$

$$u_{bk2} = \frac{\delta t_{od}}{\sqrt{3}}$$

+Độ KĐBĐ tính theo độ đồng đều:  $u_{bk3}$

$$u_{bk3} = \frac{\delta t_{dd}}{\sqrt{3}}$$

+Độ KĐBĐ tính theo độ phân giải của chỉ thị kho lạnh:  $u_{bk4}$

+Đối với chỉ thị tương tự:

$$u_{bk4} = \frac{d}{10\sqrt{3}}$$

+Đối với chỉ thị hiện số:

$$u_{bk4} = \frac{d}{2\sqrt{3}}$$

trong đó:

d: độ phân giải chỉ thị của kho lạnh

+ Độ KĐBD chuẩn liên hợp của kho lạnh:  $u_{bk}$

$$u_{bk} = \sqrt{u_{bk1}^2 + u_{bk2}^2 + u_{bk3}^2 + u_{bk4}^2}$$

- Độ không đảm bảo đo tổng hợp

$$u_c = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{bk}^2}$$

- Độ không đảm bảo đo mở rộng  $U_{95}$

Tính với mức độ tin cậy 95% C.L.; hệ số phủ  $k = 2$ :

#### 4.1.3. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau hiệu chuẩn.
- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định
- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được trả về chế độ cài đặt ban đầu và bàn giao lại thiết bị cho khách hàng.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Tùy theo yêu cầu của khách hàng có thể công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn.
- Đối với khách hàng không có yêu cầu cụ thể về cách đánh giá kết quả hiệu chuẩn thì công bố độ KĐBD và tìm ra:

- + Vị trí có nhiệt độ thấp nhất, cao nhất
- + Vị trí có nhiệt độ ra ngoài dải cho phép

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả hiệu chuẩn.
- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

##### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

- Biểu mẫu Quan trắc gốc
- Biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

##### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Thông tin về số lượng EDLMs sẽ sử dụng để hiệu chuẩn không rõ ràng. Phải tiến hành khảo sát kho lạnh và thống nhất về số lượng EDLMs sẽ sử dụng để hiệu chuẩn.

- Các cảm biến chuẩn, dây cảm biến chuẩn hết hạn hiệu chuẩn. Đảm bảo tất cả cảm biến, dây cảm biến sử dụng khi hiệu chuẩn phải còn hạn hiệu chuẩn.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Pin của các cảm biến chuẩn hết pin, dẫn đến không thể tiếp tục quá trình hiệu chuẩn. Phải kiểm tra trình trạng của các cảm biến trước khi tới cơ sở của khách hàng.

- Mất điện tại cơ sở của khách hàng trong quá trình hiệu chuẩn. Thông báo cho khách hàng về tình huống và thống nhất thời điểm tiến hành hiệu chuẩn lại.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Áp dụng sai mức đánh giá. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm

Không áp dụng.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- WHO – Supplement 8 Temperature mapping of storage areas.

- DIN 12880:2007 (parts 1 and 2) Climatic chambers.

- Guideline DKD-R 5-7 Calibration of Climatic Chamber, Edition 07/2004.



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 274:  
HIỆU CHUẨN NHIỆT ẨM KẾ**

**1. ĐẠI CƯƠNG**

**1.1. Mục đích**

Văn bản này quy định phương pháp hiệu chuẩn phương tiện đo nhiệt độ, độ ẩm không khí (gọi tắt là nhiệt ẩm kế).

**1.2. Định nghĩa**

1.2.1. Định nghĩa

- Phương tiện đo nhiệt độ và độ ẩm không khí là thiết bị dạng cầm tay, để bàn hoặc online sử dụng điện hoặc pin để đo nhiệt độ và độ ẩm của không khí.

- Phương pháp hiệu chuẩn PTĐ nhiệt độ và độ ẩm không khí: so sánh kết quả đo trực tiếp nhiệt độ và độ ẩm hiển thị trên PTĐ với giá trị nhiệt độ, độ ẩm hiển thị trên nhiệt ẩm kế chuẩn.

- Độ không đảm bảo đo: thông số gắn với kết quả đo đặc trưng cho sự phân tán giá trị của một đại lượng cần đo một cách hợp lý.

1.2.2. Từ viết tắt

PTĐ: Phương tiện đo

**1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng

**2. CHUẨN BỊ**

**2.1. Người thực hiện**

- Nhân sự được đào tạo chuyên ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn, trong đó:

+ Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị thiết bị chuẩn, dụng cụ và các công việc hành chính: 1 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên

+ Thực hiện hiệu chuẩn: 2 nhân sự trình độ đại học trở lên

+ Xem xét, kiểm tra kết quả: 1 nhân sự trình độ đại học trở lên

+ Phê duyệt kết quả: 2 nhân sự trình độ đại học trở lên

**2.2. Vật tư:**

2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất:

Không áp dụng

2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Bia cứng, cồn tinh khiết, găng tay, giẻ sạch không xơ, vải mềm vệ sinh

- Trang bị bảo hộ cá nhân

- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

### 2.3. Thiết bị

- Tủ vi khí hậu Kambic PKK-50: (10÷95) %RH / 0,1%RH, 8÷55 °C / 0,1°C
- Thiết bị đo nhiệt độ, ẩm độ Rotronic, HL-NT2-DP: Phạm vi đo: (-10~+50) °C (pin alkaline), (-30~+70) °C (pin lithium), 100 %RH, d: 0,01 °C; 0,01 %RH

- Giá đỡ nhiệt ẩm kế
- Phương tiện chiếu sáng
- Đồng hồ bấm giây Traceable

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có

#### 2.4.1. Đối với QTKT lấy mẫu bệnh phẩm hoặc mẫu xét nghiệm:

Không áp dụng

2.4.2. Đối với QTKT về thực hiện xét nghiệm (chuẩn bị mẫu hoặc mẫu bệnh phẩm trước khi xét nghiệm)

- Mục điều kiện của đối tượng được hiệu chuẩn (trong quy trình)
- Trước khi tiến hành hiệu chuẩn, phải đảm bảo nhiệt kế ở tình trạng hoạt động bình thường, đảm bảo các yêu cầu về an toàn và vệ sinh.
- Đề nghị khách hàng cung cấp tài liệu kỹ thuật của nhiệt kế (nếu có).
- Thiết bị phải có đầy đủ nhãn sản xuất và hướng dẫn sử dụng: Thiết bị phải có đầy đủ nhãn sản xuất và hướng dẫn sử dụng. Trường hợp không có sách hướng dẫn sử dụng, hiệu chuẩn viên có thể tải tài liệu trên trang thông tin điện tử của thiết bị về để xem hoặc từ chối hiệu chuẩn nếu không đủ thông tin cần thiết. Trường hợp thiết bị không có đầy đủ nhãn, hoặc nhãn bị bong tróc không ghi nhận được mã số nhận dạng thiết bị: model (kiểu mẫu), serial number (số định danh thiết bị), số nhận dạng thiết bị của khách hàng (ID), hiệu chuẩn viên xử lý theo hướng dẫn HD02 (Hướng dẫn về xử lý thiết bị không đầy đủ thông tin nhận dạng)
- Màn hình hiển thị (vạch chia) phải rõ ràng, đầy đủ; các cơ cấu chức năng, điều khiển phải hoạt động bình thường theo quy định của nhà sản xuất.

### 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm nếu có

Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Thời gian thực hiện hiệu chuẩn nhiệt ẩm kế: 12,6 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại đơn vị thực hiện hiệu chuẩn.

## 3. AN TOÀN

- Hiệu chuẩn viên phải thực hiện đúng nội quy, quy định hiện hành tại khu vực làm

việc

- Chỉ mở tủ khi nhiệt độ xuống dưới 40 °C
- Hiệu chuẩn viên phải mang găng tay chịu nhiệt và các trang thiết bị bảo hộ lao động khác thích hợp
- Đối với tủ nhiệt: Sử dụng găng tay chịu nhiệt khi lắp đặt và lấy các nhiệt kế.
- Làm vệ sinh trang thiết bị hiệu chuẩn bằng dung dịch khử trùng trước và sau khi hiệu chuẩn.
- Hiệu chuẩn được tiến hành tại phòng hiệu chuẩn nhiệt kế.
- Môi trường hiệu chuẩn phải thoáng khí, sạch sẽ.
- Nhiệt độ:  $(23 \pm 5) ^\circ\text{C}$ ; độ ổn định  $\pm 1 ^\circ\text{C}$ .
- Độ ẩm: 40 – 80 %RH và không đọng sương.
- Điện áp nguồn ổn định phù hợp yêu cầu nhà sản xuất.

#### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

##### 4.1. Các bước thực hiện:

##### 4.1.1 Kiểm tra bên ngoài:

- Kiểm tra trực quan để xác định sự phù hợp của nhiệt kế đối với các yêu cầu quy định trong tài liệu kỹ thuật: hình dáng, cơ cấu chỉ thị, nhãn thông tin kỹ thuật của thiết bị (phạm vi nhiệt độ, độ phân giải), tài liệu và phụ tùng kèm theo.
- Nhiệt ẩm kế không bị nứt vỡ, biến dạng, hư hỏng.
- Cơ cấu chỉ thị (màn hình hiển thị, vạch chia) phải rõ ràng, đầy đủ.

##### 4.1.2. Kiểm tra kỹ thuật:

Kiểm tra tình trạng hoạt động bình thường của PTĐ theo hướng dẫn vận hành PTĐ.

##### 4.1.3. Kiểm tra đo lường:

- Đối với nhiệt ẩm kế điện tử, kiểm tra điện áp nguồn nuôi trước khi thực hiện kiểm tra nhiệt độ, độ ẩm

##### *a. Kiểm tra đo lường nhiệt độ:*

- Kiểm tra PTĐ bằng tủ chuẩn ở độ ẩm 60 % RH tại các điểm nhiệt độ 15°C, 25°C, 35°C (hoặc điểm nhiệt độ, độ ẩm theo yêu cầu riêng của khách hàng).

##### - Các bước tiến hành:

+ Đặt PTĐ vào tủ chuẩn

+ Khởi động tủ cài đặt các thông số cần chuẩn, chờ cho tủ hoạt động ổn định đến điểm nhiệt cần kiểm tra. Khi tủ đã ổn định, tại mỗi điểm chuẩn ghi liên tiếp ít nhất 5 giá trị nhiệt độ hiển thị trên PTĐ và giá trị nhiệt độ của thiết bị chuẩn vào biên bản, 2 lần đo liên tiếp cách nhau không dưới 1 phút.

+ Nếu kết quả đo nhiệt độ vượt quá sai số cho phép của PTĐ thì hiệu chuẩn lại PTĐ đối với các PTĐ có cơ cấu chỉnh.



*b. Kiểm tra đo lường độ ẩm:*

- Kiểm tra PTĐ bằng tủ chuẩn ở nhiệt độ 20°C tại các điểm độ ẩm 40 %RH, 60 %RH, 80 %RH (hoặc điểm nhiệt độ, độ ẩm theo yêu cầu riêng của khách hàng).

- Các bước tiến hành:

+ Đặt phương tiện đo vào tủ chuẩn

+ Khởi động tủ cài đặt các thông số cần chuẩn, chờ cho tủ hoạt động ổn định đến điểm độ ẩm cần kiểm tra. Khi tủ đã ổn định, tại mỗi điểm chuẩn ghi liên tiếp ít nhất 5 giá trị độ ẩm hiển thị trên PTĐ và giá trị độ ẩm của thiết bị chuẩn vào biên bản, 2 lần đo liên tiếp cách nhau không dưới 1 phút

+ Nếu kết quả đo độ ẩm vượt quá sai số cho phép của PTĐ thì hiệu chuẩn lại PTĐ đối với các PTĐ có cơ cấu chỉnh.

#### 4.2. Nhận định kết quả

##### 4.2.1 Tính toán kết quả hiệu chuẩn:

*a. Xác định số hiệu chỉnh của nhiệt ẩm kế tại mỗi điểm nhiệt độ, độ ẩm kiểm tra:*

- Giá trị trung bình của nhiệt ẩm kế chuẩn ( $\bar{C}_{ch}$ ) tại mỗi điểm nhiệt độ, độ ẩm hiệu chuẩn, được tính theo công thức:

$$\bar{C}_{ch}(C_T, C_H) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n C_{ch,i}$$

+ Trong đó:

n: là số lần đọc nhiệt ẩm kế chuẩn tại mỗi điểm nhiệt độ, độ ẩm hiệu chuẩn

$\bar{C}_{ch,i}$ : là số chỉ của nhiệt ẩm kế chuẩn tại lần đọc thứ i

$C_T$ : ứng với giá trị nhiệt độ

$C_H$ : ứng với giá trị độ ẩm

- Giá trị trung bình của nhiệt ẩm kế cần hiệu chuẩn ( $\bar{C}_{PTD}$ ) tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra, được tính theo công thức:

$$\bar{C}_{PTD}(C_T, C_H) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n C_{PTD,i}$$

+ Trong đó:

$\bar{C}_{PTD,i}$ : là số chỉ của nhiệt ẩm kế tại lần đọc thứ i

n: là số lần đọc của nhiệt ẩm kế tại mỗi điểm nhiệt độ, độ ẩm kiểm tra

- Số hiệu chỉnh  $\Delta S$  được tính theo công thức:

$$\Delta S(\Delta C_T, \Delta C_H) = \left[ \bar{C}_{ch}(C_T, C_H) + \partial C_{ch} \right] - \bar{C}_{PTD}(C_T, C_H)$$

$\Delta C_T$ : ứng với số hiệu chỉnh nhiệt độ, đơn vị °C

$\Delta CH$ : ứng với số hiệu chỉnh độ ẩm, đơn vị %RH

$\bar{C}_{PTD}$ : giá trị trung bình nhiệt độ ( $^{\circ}C$ ), độ ẩm (%RH) đo được trên PTD cần hiệu chuẩn

$\bar{C}_{ch}$ : giá trị trung bình nhiệt độ ( $^{\circ}C$ ), độ ẩm (%RH) của nhiệt ẩm kế chuẩn

$\partial C_{ch}$ : là số hiệu chỉnh của nhiệt ẩm kế chuẩn tại điểm nhiệt độ, độ ẩm kiểm tra (xem giấy chứng nhận hiệu chuẩn của nhiệt kế chuẩn)

- Số hiệu chỉnh ( $\Delta S$ ) tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra không được vượt quá giá trị sai số cho phép (tương ứng với độ chính xác) của nhiệt kế.

- Ý nghĩa của giá trị sau khi hiệu chuẩn:

$$\boxed{\text{Giá trị nhiệt độ chỉ thị của nhiệt ẩm kế} = \text{Giá trị nhiệt độ hiển thị trên nhiệt ẩm kế} + \Delta C_T}$$

$$\boxed{\text{Giá trị độ ẩm chỉ thị của nhiệt ẩm kế} = \text{Giá trị độ ẩm hiển thị trên nhiệt ẩm kế} + \Delta C_H}$$

b. Sai số tuyệt đối được tính theo công thức

$$\Delta C = \bar{C}_{PTD} - \bar{C}_{ch} \text{ (%RH, } ^{\circ}C)$$

c. Sai số tương đối được tính theo công thức

$$\delta = \frac{|\bar{C}_{PTD} - \bar{C}_{ch}|}{\bar{C}_{ch}}$$

4.2.2. Đánh giá độ không đảm bảo đo:

Độ không đảm bảo đo của phép hiệu chuẩn nhiệt ẩm kế được tính toán từ các sai số ảnh hưởng đến các phép đo nhiệt độ, ẩm độ khi hiệu chuẩn, gồm các thành phần trong Bảng 3 sau đây:

STT	Nguồn gốc gây ra độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ)	Ký hiệu
<b>I</b>	<b>Độ không đảm bảo đo của tổ hợp chuẩn</b>	<b><math>u_{ch}</math></b>
1	Độ tản mạn của kết quả đo	$u_{ch1}$
2	Độ không đảm bảo đo do nhiệt kế, ẩm kế chuẩn:	$u_{ch2}$
3	Độ không đảm bảo đo của môi trường tạo nhiệt ẩm độ	$u_{ch3}$
<b>II</b>	<b>Độ không đảm bảo đo của nhiệt ẩm kế bị kiểm</b>	<b><math>u_{bk}</math></b>
1	Độ tản mạn kết quả đo	$u_{bk1}$
2	Độ chia nhỏ nhất của nhiệt ẩm kế cần hiệu chuẩn:	$u_{bk2}$

*Handwritten signatures and marks at the bottom right of the page.*

III	Độ không đảm bảo đo tổng hợp	$u_c$
IV	Độ không đảm bảo đo mở rộng	$U_{exp}$

a. Độ không đảm bảo đo của tổ hợp chuẩn:  $u_{ch}$

- ĐKĐBĐ do độ tản mạn của kết quả đo của nhiệt kế, ẩm kế chuẩn:  $u_{ch1}$

$$u_{ch1} = \frac{S_{chLT}}{\sqrt{n}}$$

- Trong đó:

+  $S_{chLT}$ : là độ lệch chuẩn lũy tích của nhiệt ẩm kế chuẩn, được tính theo công thức:

$$S_{chLT} = \sqrt{\sum \frac{S_{ch,j}^2}{N}}$$

+  $S_{ch,j}$ : là độ lệch chuẩn của nhiệt kế chuẩn, ẩm kế chuẩn, được tính theo công thức:

$$S_{ch,j} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (t_{ch,i} - \bar{t}_{ch})^2}{n-1}}$$

Với:

$N$ : Số điểm nhiệt độ, ẩm độ kiểm tra;

$n$ : Số lần đọc tại mỗi điểm nhiệt độ, ẩm độ;

$t_{ch,i}$ : Nhiệt độ, ẩm độ hiển thị tại lần đọc thứ  $i$  của nhiệt kế chuẩn, ẩm kế chuẩn;

$\bar{t}_{ch}$ : Nhiệt độ, ẩm độ trung bình tại điểm kiểm tra của nhiệt kế chuẩn, ẩm kế chuẩn

- Độ không đảm bảo đo do nhiệt kế chuẩn, ẩm kế chuẩn:  $u_{ch2}$

+ Thành phần này được lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn của nhiệt kế chuẩn, ẩm kế chuẩn, tính từ độ không đảm bảo đo mở rộng:  $U_{95}$  (theo mức độ tin cậy chất lượng  $P = 95\%$  và hệ số phủ  $k = 2$ ), được tính theo công thức:

$$u_{ch2} = \frac{U_{95}}{2}$$

- Độ không đảm bảo đo của môi trường tạo nhiệt ẩm độ:  $u_{ch3}$

+ Thành phần này được tính từ tổ hợp hai thành phần độ không đảm bảo đo của thiết bị theo độ ổn định  $\square_{od}$  và độ đồng đều  $\square_{dd}$  của khoang tạo môi trường nhiệt ẩm chuẩn lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn, được tính theo công thức:

$$u_{ch3} = \sqrt{\frac{\delta_{od}^2 + \delta_{dd}^2}{3}}$$

- Độ không đảm bảo đo chuẩn tổng hợp của tổ hợp chuẩn:



$$u_{ch} = \sqrt{u_{ch1}^2 + u_{ch2}^2 + u_{ch3}^2}$$

b. Độ không đảm bảo đo của nhiệt ẩm kế bị kiểm:  $u_{bk}$

- ĐKĐBĐ do độ tản mạn kết quả đo của nhiệt ẩm kế bị kiểm:  $u_{bk1}$

$$u_{bk1} = \frac{S_{PTDLT}}{\sqrt{n}}$$

- Trong đó:

+  $S_{PTDLT}$ : là độ lệch chuẩn lũy tích của phương tiện đo, được tính theo công thức:

$$S_{PTDLT} = \sqrt{\sum \frac{S_{PTD,j}^2}{N}}$$

+  $S_{PTD,j}$  là độ lệch chuẩn của nhiệt ẩm kế bị kiểm, theo công thức:

$$S_{PTD,j} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (t_{PTD,i} - \overline{t_{PTD}})^2}{n-1}}$$

- Trong đó:

$N$ : Số điểm nhiệt độ kiểm tra;

$n$ : Số lần đọc tại mỗi điểm nhiệt độ;

$t_{PTD,i}$ : Lần đọc thứ  $i$  của nhiệt ẩm kế bị kiểm;

$\overline{t_{PTD}}$ : Nhiệt độ trung bình tại điểm kiểm tra của nhiệt ẩm kế bị kiểm;

- Độ không đảm bảo đo tính theo giá trị độ chia nhỏ nhất của nhiệt ẩm kế cần hiệu chuẩn:  $u_{bk2}$

+ Đối với chỉ thị tương tự:

$$u_{bk2} = \frac{d}{10\sqrt{3}}$$

+ Đối với chỉ thị hiện số:

$$u_{bk2} = \frac{d}{2\sqrt{3}}$$

- Trong đó:  $d$  là độ chia nhỏ nhất của nhiệt ẩm kế cần hiệu chuẩn;

- Độ không đảm bảo đo chuẩn tổng hợp của nhiệt ẩm kế cần hiệu chuẩn:

$$u_{bk} = \sqrt{u_{bk1}^2 + u_{bk2}^2}$$

c. Độ không đảm bảo đo tổng hợp:  $u_c$

$$u_c = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{bk}^2}$$

d. Độ không đảm bảo đo mở rộng:  $U_{exp}$  (với mức độ tin cậy 95%, hệ số phủ  $k =$

*Handwritten signatures and marks.*

2)

$$U_{exp} = 2 \times u_C$$

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

-Trả kết quả theo theo biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm
2	Biểu mẫu biên bản hiệu chuẩn nhiệt ẩm kế
3	Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

#### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

TT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn	Bản giấy	5
2	Biểu mẫu biên bản hiệu chuẩn nhiệt ẩm kế	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn	Bản giấy	5
3	Giấy chứng nhận hiệu chuẩn	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn, cơ sở sử dụng	Bản giấy	5

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

Không áp dụng

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm chất lượng

Không áp dụng

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

So sánh song phương với phòng thí nghiệm cung cấp dịch vụ hiệu chuẩn đã được công nhận.

**7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- ĐLVN 359: 2022 Phương tiện đo nhiệt độ/ độ ẩm không khí – Quy trình kiểm định, do Ban kỹ thuật đo lường TC 11 “Phương tiện đo nhiệt độ và các đại lượng liên quan” biên soạn, Viện Đo lường Việt Nam đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng ban hành.





**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 275:  
HIỆU CHUẨN CÂN ĐIỆN TỬ**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy định các bước thực hiện hiệu chuẩn cân điện tử

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Định nghĩa**

- Mức cân lớn nhất (sau đây viết tắt là max) là khả năng cân lớn nhất không tính đến khả năng trừ bì của cân

- Cân không tự động: cần có sự can thiệp của người sử dụng trong quá trình cân, ví dụ như dời chuyển vật cân lên đĩa cân hoặc ngược lại để thu nhận giá trị cân

- Giá trị độ chia là giá trị được thể hiện bằng đơn vị khối lượng của hiệu số giữa 2 giá trị chỉ thị liên tiếp

- Cân có nhiều độ chia: cân có một phạm vi cân được chia thành các phạm vi cân cục bộ với giá trị độ chia khác nhau và tự động thay đổi thích hợp khi tải tăng hoặc giảm

- Cân có nhiều phạm vi: cân có hai hoặc nhiều phạm vi cân với khả năng cân lớn nhất và giá trị độ chia khác nhau cho cùng một đĩa, mỗi phạm vi cân được phân độ từ “0” đến giá trị lớn nhất của phạm vi đó

- Độ không đảm bảo đo: thông số không âm đặc trưng cho sự phân tán của các giá trị đại lượng được qui cho đại lượng đo, trên cơ sở thông tin đã sử dụng

- Giá trị đo trung bình: Trung bình của các giá trị đo được, sau khi ổn định, ghi nhận bởi các phương tiện chuẩn từ hoạt động của thiết bị cân hiệu chuẩn

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- ĐKĐBĐ: Độ không đảm bảo đo

- QTKT: Quy trình kỹ thuật

### **1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Nhân sự được đào tạo chuyên ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị thiết bị chuẩn, dụng cụ và các công việc hành chính: 1 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên

- Thực hiện hiệu chuẩn: 2 nhân sự trình độ đại học trở lên

- Xem xét, kiểm tra kết quả: 1 nhân sự trình độ đại học trở lên

- Phê duyệt kết quả: 2 nhân sự trình độ đại học trở lên

## 2.2. Vật tư

### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

Không áp dụng

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Khẩu trang y tế, găng tay y tế, giấy vệ sinh cân
- Pin CR, cọ vệ sinh
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

## 2.3. Thiết bị

TT	Phương tiện hiệu chuẩn	Đặc trưng kỹ thuật đo lường cơ bản
1	Bộ quả cân chuẩn có tổng khối lượng danh nghĩa bằng max của cân	Cấp chính xác F1 trở lên (hiệu chuẩn cân phân tích) Cấp chính xác F2 trở lên (hiệu chuẩn cân kỹ thuật)
2	Nhiệt/Ấm/Áp kế	(15 ÷ 30) °C, d = 0,1 °C (30 ÷ 90) %RH, d = 1 %RH
3	Máy tính xách tay	

## 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có

### 2.4.1. Đối với QTKT lấy mẫu bệnh phẩm hoặc mẫu xét nghiệm

Không áp dụng

2.4.2. Đối với QTKT về thực hiện xét nghiệm (chuẩn bị mẫu hoặc mẫu bệnh phẩm trước khi xét nghiệm)

- Vệ sinh cân sạch sẽ.
- Đặt cân chắc chắn trên mặt phẳng và điều chỉnh thăng bằng.
- Bật nguồn để sấy máy tối thiểu 30 phút hoặc theo yêu cầu của nhà sản xuất
- Đặt và mở nắp hộp quả cân chuẩn cạnh cân cần hiệu chuẩn
- Mở cửa buồng cân để cân bằng nhiệt độ trong buồng cân với môi trường

## 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm nếu có

Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm

## 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Thời gian thực hiện hiệu chuẩn cân điện tử: 10 giờ (đã bao gồm các vị trí công

việc)

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại cơ sở sử dụng.

### 3. AN TOÀN

- Địa điểm hiệu chuẩn phải đủ sáng, xa các nguồn sinh nhiệt, xa các nguồn sinh gió, không bị rung động

- Nhiệt độ: nằm trong khoảng giới hạn nhiệt độ làm việc của nhà sản xuất quy định. Biến động nhiệt độ trong phòng cần nằm trong giới hạn:

$\pm 2^{\circ}\text{C}$  đối với cân cấp chính xác I

$\pm 5^{\circ}\text{C}$  đối với cân cấp chính xác II

- Sự thay đổi nhiệt độ trong thời gian hiệu chuẩn không được vượt quá giới hạn  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}/\text{h}$  (đối với cân cấp chính xác I) và  $\pm 1^{\circ}\text{C}/\text{h}$  (đối với cân cấp chính xác II)

### 4. CÁC BƯỚC THỰC HIỆN

#### 4.1. Các bước thực hiện

##### 4.1.1. Kiểm tra bên ngoài

Phải kiểm tra bên ngoài theo các yêu cầu sau đây:

- Cân phải có nhãn ghi các thông số như số máy, nơi sản xuất, max, giá trị độ chia
- Cân phải có đầy đủ các bộ phận và phụ kiện cần thiết
- Bộ phận chỉ thị của cân phải đảm bảo rõ ràng và đọc được chính xác
- Bộ phận tiếp nhận tải của cân phải cứng, vững và không bị vướng bởi các bộ phận khác của cân

##### 4.1.2. Kiểm tra kỹ thuật

Phải kiểm tra kỹ thuật theo các yêu cầu sau đây:

- Tải khởi động cân 3 lần, mức tải khởi động tương đương với  $(80 \div 100) \%$  của max. Trong quá trình tải khởi động, cân phải hoạt động bình thường
- Đối với cân có chức năng hiệu chỉnh bằng quả cân bên trong thì phải cho cân thực hiện chức năng này. Chức năng đó của cân phải hoạt động bình thường

##### 4.1.3. Kiểm tra đo lường

Thực hiện các phép thử cho từng loại cân theo bảng 3:

Bảng 3

Tên phép thử	Cân một phạm vi với một giá trị độ chia	Cân một phạm vi với nhiều giá trị độ chia	Cân nhiều phạm vi
Độ lặp lại	Thử ít nhất một tải	Thử tại cuối mỗi giá trị độ chia	Thử từng phạm vi như cân một phạm vi



Sai số gốc	Thử tại một tải từ 1/3 max đến 1/2 max	Thử tại một tải từ 1/3 max đến 1/2 max	Thử tại một tải từ 1/3 max đến 1/2 max
Sai số chỉ thị	Thử nhiều điểm chia đều trên phạm vi	Thử nhiều điểm chia đều trên toàn phạm vi	Thử nhiều điểm chia đều trên mỗi phạm vi

*a. Kiểm tra độ lặp lại*

- Tiến hành cân lặp lại 10 lần cùng 1 quả cân chuẩn có khối lượng danh nghĩa tương đương từ 0,5 max đến max (đối với cân có một phạm vi) hoặc 0,7 max đến max ở mỗi phạm vi (đối với cân nhiều phạm vi)

- Thực hiện như sau: đặt tải thử lên đĩa cân, đọc chỉ thị trên cân, lấy tải ra khỏi đĩa cân. Sau mỗi lần lấy tải ra khỏi đĩa cân kiểm tra để thấy số chỉ trên cân về "0", nếu không thì đọc chỉ thị không tải  $I_0$  (và không đưa số chỉ về 0) trước khi thực hiện phép cân kế tiếp

Số liệu kiểm tra được ghi vào biên bản hiệu chuẩn hoặc in số liệu đo được từ file mềm được nhập thông tin trực tiếp trong quá trình hiệu chuẩn

*b. Kiểm tra độ lệch tâm*

- Vị trí kiểm:

Bộ phận tiếp nhận tải được chia thành 4 phần có diện tích bằng nhau, 4 vị trí kiểm tra độ lệch tâm là tâm của 4 phần đó (xem hình 1)

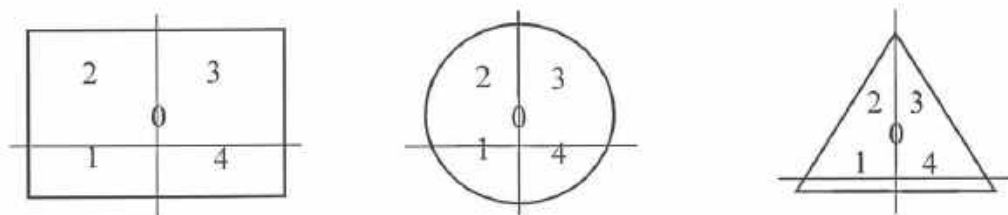
- Mức tải kiểm tra  $L_{ecc}$ : Mức tải kiểm tra độ lệch tâm  $L_{ecc}$  xấp xỉ  $max/3$

- Trình tự kiểm tra:

+ Bước 1: đưa số chỉ của cân về "0"

+ Bước 2: đặt tải kiểm tra vào vị trí giữa của bộ phận tiếp nhận tải (vị trí 0 trên hình 1), ghi lại số chỉ trên cân  $I_{ecc0}$

+ Bước 3: lần lượt nhắc tải ra và đặt vào các vị trí kiểm tra đã nêu (tại mục 4.1.3.b vị trí kiểm tra), ghi lại số chỉ trên cân  $I_{ecc1}$ . Trước mỗi lần đặt tải phải đưa số chỉ của cân về "0"



Hình 1. Sơ đồ vị trí kiểm tra độ lệch tâm

Số liệu kiểm tra được ghi vào biên bản hiệu chuẩn hoặc in số liệu đo được từ file mềm được nhập thông tin trực tiếp trong quá trình hiệu chuẩn

*Đuân* *MD*

c. Kiểm tra sai số chỉ thị

- Trong mỗi phạm vi cân số điểm thử phụ thuộc vào độ lớn của phạm vi hoặc theo đề nghị của người sử dụng cân. Các điểm thử cần phân bố đều trên toàn phạm vi thử, trong đó phải có các điểm thử ứng với max, min. Các điểm cách nhau không lớn hơn 0,25 max

- Nếu không có yêu cầu riêng, tiến hành kiểm tra 11 điểm thử được chia đều từ mức min đến mức max

- Thực hiện:

Tại mức thử thấp nhất:

+ Đưa số chỉ của cân về 0, ghi giá trị  $I_{0i1}$

+ Đặt tải thứ 1 lên, ghi giá trị trên cân  $I_{Li1}$

+ Nhẹ nhàng lấy tải ra và đặt lại tải lên đĩa cân, ghi giá trị  $I_{Li2}$

+ Lấy tải ra khỏi đĩa cân, ghi giá trị trên cân  $I_{0i2}$

Tiếp tục tiến hành tương tự đối với các mức thử còn lại

Số liệu kiểm tra được ghi vào biên bản hiệu chuẩn hoặc in số liệu đo được từ file mềm được nhập thông tin trực tiếp trong quá trình hiệu chuẩn

#### 4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Độ lặp lại của cân được xác định theo công thức

$$s_{rep} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{10} (I_{Ri} - I_{Rtb})^2}{n - 1}}$$

Trong đó:

$$I_{Rtb} = \frac{\sum_{i=1}^{10} I_{Ri}}{n}$$

$$I_{Ri} = I_{ji} - \frac{(I_{0(i)} + I_{0(i+1)})}{2}$$

$I_{Ri}$ : giá trị của cân tại lần cân thứ i (g)

$I_{Rtb}$ : giá trị trung bình của 10 lần cân lặp lại (g)

$I_{ji}$ : số chỉ của cân có tải tại lần cân thứ i (g)

$I_{0i}$ : số chỉ của cân không tải tại lần cân thứ i (g)

4.2.2. Độ lệch tâm được xác định như sau

$$\Delta I_{ecc} = \max |I_{ecc1} - I_{ecc0}|$$

4.2.3. Sai số chỉ thị  $I_L$  được tính như sau

$$I_{Li} = \left[ \left( \frac{I_{Li1} + I_{Li2}}{2} \right) - \left( \frac{I_{0i1} + I_{0i2}}{2} \right) \right] - L_i$$

## 4.2.4. Ước lượng độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ)

a. ĐKĐBĐ của thành phần độ lặp lại

$$u(\delta I_{\text{rep}}) = s_{\text{rep}}/\sqrt{n}$$

b. ĐKĐBĐ của thành phần giá trị độ chia tại 0

$$u(\delta I_{\text{dig0}}) = \frac{d_0}{2\sqrt{3}}$$

c. ĐKĐBĐ của thành phần giá trị độ chia tại max

$$u(\delta I_{\text{digL}}) = \frac{d}{2\sqrt{3}}$$

d. ĐKĐBĐ của thành phần độ lệch tâm

$$u(\delta I_{\text{ecc}}) = \frac{\Delta l_{\text{ecc}} \times L_T}{2\sqrt{3} \times L_{\text{ecc}}}$$

e. ĐKĐBĐ của thành phần độ trôi khối lượng quả cân chuẩn theo thời gian

$$u(\delta m_D) = \frac{D}{\sqrt{3}}$$

$$u(\delta m_D) = \frac{mpe}{3\sqrt{3}}$$

Trong đó:

- D: độ trôi của quả cân

- mpe: sai số cho phép của quả cân

f. ĐKĐBĐ của thành phần bộ quả cân chuẩn

$$u(\delta m_c) = \frac{U_c}{k}$$

Nếu sử dụng tổ hợp quả thì

$$u(\delta m_c) = \frac{\sqrt{U_{c1}^2 + U_{c2}^2 + \dots}}{k}$$

 $U_c$ : độ không đảm bảo đo của quả cân chuẩn

k: hệ số phủ

## 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

## 4.3.1. Trả kết quả

Trả kết quả theo biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

## 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm
2	Biểu mẫu biên bản hiệu chuẩn cân điện tử



3	Giấy chứng nhận hiệu chuẩn
---	----------------------------

#### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn	Bản giấy	5 năm
2	Biểu mẫu biên bản hiệu chuẩn cân điện tử	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn	Bản giấy	5 năm
3	Giấy chứng nhận hiệu chuẩn	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn, cơ sở sử dụng	Bản giấy	5 năm

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

Không áp dụng

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Nội kiểm chất lượng

Không áp dụng

#### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

So sánh song phương với phòng thí nghiệm cung cấp dịch vụ hiệu chuẩn đã được công nhận

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- OIML R 76-1 (2006): International Recommendation: Non-automatic weighing instruments
- Euramet Calibration Guide No.18 Version 4 (11/2015): Guidelines on the Calibration of Non-Automatic Weighing Instruments
- DLVN 16:2021 Cân phân tích và cân kỹ thuật – Quy trình kiểm định
- DLVN 284:2022: Cân phân tích – Quy trình hiệu chuẩn

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 276:  
HIỆU CHUẨN MÁY LY TÂM LẠNH**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này quy định phương pháp hiệu chuẩn tốc độ vòng quay của máy ly tâm lạnh làm việc chuyển động lặp lại theo chu kỳ nhất định với thông số kỹ thuật thể hiện bằng tốc độ vòng quay. Tốc độ vòng quay của các thiết bị này có hệ thống đo và hiển thị tốc độ quay theo giá trị đặt. Đồng thời quy định phương pháp hiệu chuẩn giá trị nhiệt độ cho máy ly tâm lạnh.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Định nghĩa**

- **Máy ly tâm lạnh:** là máy ly tâm có khả năng điều chỉnh nhiệt độ trong buồng ly tâm.

- **Độ không đảm bảo đo:** thông số không âm đặc trưng cho sự phân tán của các giá trị đại lượng được qui cho đại lượng đo, trên cơ sở thông tin đã sử dụng.

- **Giá trị đo trung bình:** Trung bình của các giá trị đo được, sau khi ổn định, ghi nhận bởi các phương tiện chuẩn từ hoạt động của thiết bị cần hiệu chuẩn.

- **Số hiệu chính của giá trị đo:** Giá trị sai lệch giữa giá trị trung bình đo được với giá trị hiển thị trên thiết bị.

- **Độ ổn định:** sự duy trì giá trị cài đặt theo thời gian đọc kết quả trong khoảng dung sai đã cho.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- QTHC: Quy trình hiệu chuẩn
- ĐKĐBĐ: độ không đảm bảo đo
- PTĐ: Phương tiện đo

### **1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Nhân sự được đào tạo chuyên ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn, trong đó:

+ Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị thiết bị chuẩn, dụng cụ và các công việc hành chính: 1 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên

+ Thực hiện hiệu chuẩn: 2 nhân sự trình độ đại học trở lên

+ Xem xét, kiểm tra kết quả: 1 nhân sự trình độ đại học trở lên

+ Phê duyệt kết quả: 2 nhân sự trình độ đại học trở lên

**2.2. Vật tư:**

## 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

Không áp dụng

## 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Găng tay y tế, khẩu trang y tế, mắt kính bảo hộ, còng 70o...
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

**2.3. Thiết bị**

TT	Thiết bị/chuẩn sử dụng	Phạm vi đo/ độ phân giải
1	Thiết bị đo điện đa năng	- Cường độ dòng điện AC qua miệng kim: Dải đo: 999,9 ampe Độ phân giải: 0,1 ampe - Cường độ dòng điện AC qua đầu dò dòng điện linh hoạt Dải đo: 2500 ampe Độ phân giải: 0,1 ampe ( $\leq 999,9$ ampe) 1 ampe ( $\leq 2500$ ampe) - Điện áp xoay chiều (AC): Dải đo: 1000V Độ phân giải: 0,1 V ( $\leq 600,0$ V) 1 V ( $\leq 1000$ V)
2	Thiết bị đo tốc độ vòng quay	Phạm vi đo: 1 ~ 99999 r/min Độ phân giải: - 1 rpm ở dải 1000 ~ 99999 r/min - 0,1 rpm ở dải 100,0 ~ 999,9 r/min - 0,01 rpm ở dải 1,00 ~ 99,99 r/min
3	Nhiệt kế điện tử	-50 đến 250°C
4	Đồng hồ điện tử Traceable®	



## **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có**

### **2.4.1. Đối với QTKT lấy mẫu bệnh phẩm hoặc mẫu xét nghiệm:**

Không áp dụng

**2.4.2. Đối với QTKT về thực hiện xét nghiệm (chuẩn bị mẫu hoặc mẫu bệnh phẩm trước khi xét nghiệm)**

- Trước khi tiến hành hiệu chuẩn, phải đảm bảo thiết bị ở tình trạng hoạt động bình thường, đảm bảo các yếu tố về an toàn và vệ sinh.

- Đề nghị khách hàng cung cấp tài liệu kỹ thuật của thiết bị (nếu có).

- Thiết bị phải có đầy đủ nhãn sản xuất và hướng dẫn sử dụng.

- Trường hợp không có sách hướng dẫn sử dụng, hiệu chuẩn viên có thể tải tài liệu trên trang tin điện tử của thiết bị về để xem hoặc từ chối hiệu chuẩn nếu không đủ thông tin cần thiết

- Trường hợp thiết bị không có đầy đủ nhãn, hoặc nhãn bị bong tróc không ghi nhận được mã số nhận dạng thiết bị: model (kiểu mẫu), serial number (số định danh thiết bị), số nhận dạng thiết bị của khách hàng (ID) hiệu chuẩn viên xử lý theo hướng dẫn HD02 (Hướng dẫn về xử lý thiết bị không đầy đủ thông tin nhận dạng)

- Màn hình hiển thị phải rõ ràng, đầy đủ; các cơ cấu chức năng, điều khiển phải hoạt động bình thường theo quy định của nhà sản xuất.

## **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm nếu có**

Không áp dụng

## **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

9,65 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc)

## **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Tại cơ sở sử dụng

## **3. AN TOÀN**

- Hiệu chuẩn viên phải thông nhất quy trình hiệu chuẩn với đại diện bên khách hàng: người vận hành thiết bị và phụ trách kỹ thuật (nếu cần).

- Hiệu chuẩn viên phải được sự đồng ý của khách hàng khi tháo dỡ các bộ phận của đối tượng cần đo để tiếp xúc cơ cấu quay. Đảm bảo thực hiện theo hướng dẫn tháo lắp của thiết bị, nếu không có hướng dẫn tháo lắp thì phải đảm bảo việc tháo lắp là an toàn và không ảnh hưởng chức năng, thông số kỹ thuật của đối tượng sau khi hiệu chuẩn và lắp ráp.

- Hiệu chuẩn viên phải thực hiện đúng nội quy, quy định hiện hành tại khu vực làm việc của khách hàng;

- Làm vệ sinh trang thiết bị hiệu chuẩn bằng dung dịch khử trùng trước và sau khi hiệu chuẩn.

- Điều kiện môi trường

+ Vị trí hiệu chuẩn phải sạch sẽ, đủ rộng có thể lắp đặt thiết bị chuẩn và thiết bị đo kiểm, thuận tiện cho các thao tác.

+Môi trường hiệu chuẩn phải thoáng khí, sạch sẽ.

+Nhiệt độ: +10 °C ~ +50 °C.

+Ám độ: ≤ 90% RH (ở 10°C ~ 30°C), ≤ 75% RH (ở 30°C ~ 40°C), ≤ 45% RH (ở 40°C ~ 50°C).

+Điện áp nguồn ổn định phù hợp yêu cầu nhà sản xuất.

#### **4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

##### **4.1. Các bước thực hiện:**

##### **4.1.1 Kiểm tra bên ngoài**

Kiểm tra bên ngoài theo các yêu cầu sau đây:

- Kiểm tra trực quan thiết bị được hiệu chuẩn theo các yêu cầu quy định trong tài liệu kỹ thuật: hình dáng, kí hiệu, nhãn hiệu (model thiết bị, số sản xuất, nhà sản xuất, thông số kỹ thuật,...)

- Các đồng hồ chỉ thị,

- Nguồn điện sử dụng,

- Tài liệu và phụ tùng kèm theo,

- Tình trạng vận hành thiết bị được hiệu chuẩn.

##### **4.1.2 Kiểm tra kỹ thuật**

Kiểm tra kỹ thuật theo các yêu cầu sau đây:

- Kiểm tra tình trạng của thiết bị được hiệu chuẩn khi mở nguồn.

- Hệ điều khiển các chức năng của thiết bị được hiệu chuẩn như: màn hình cảm ứng, phím bấm, công tắc, núm vặn, cần gạt, ... phải hoạt động bình thường, không biến dạng, hư hỏng, đáp ứng tốt (độ nhạy).

- Chỉ thị điện tử các thông số của thiết bị phải hiển thị đầy đủ (nếu có), không có hiện tượng thay đổi đột ngột, biến động. Đối với chỉ thị hiện số cơ học phải rõ và đủ nét.

- Nắp thiết bị được hiệu chuẩn phải đóng mở bình thường, các bộ phận an toàn không có bất thường.

- Đặc điểm rotor, tình trạng rotor, trục rotor không có bất thường

- Thiết bị phải được lắp đặt ở trạng thái cân bằng, chắc chắn, không rung lắc quá quy định khi vận hành.

- Kiểm tra các yếu tố khác theo yêu cầu của nhà sản xuất (nếu có).

##### **4.1.3 Kiểm tra đo lường**

- Đo điện áp nguồn cấp

- Đo cường độ dòng điện vào

- Đo tốc độ vòng quay: Kiểm tra đo lường theo trình tự, nội dung, phương pháp và các yêu cầu sau đây:

+Trước khi tiến hành hiệu chuẩn cần thông báo với khách hàng về các thông số



cần đo kiểm, vị trí đặt đầu đo, mẫu và vật liệu khách hàng cần chuẩn bị.

+Việc tháo dỡ các bộ phận của thiết bị để tiếp xúc bộ phận có chuyển động quay phải thực hiện theo hướng dẫn kỹ thuật của nhà sản xuất và sự đồng ý của khách hàng.

+Phải đảm bảo cân bằng thiết bị, bộ phận chuyển động theo yêu cầu nhà sản xuất (nếu có)

+Cách xác định mức tốc độ tối đa đối với máy ly tâm:

• Quan sát tốc độ tối đa trên máy và trên rotor, chọn giá trị thấp hơn làm mức tốc độ tối đa hiệu chuẩn.

• Trong trường hợp máy và/hoặc rotor đều không có thông số kỹ thuật và không truy xuất ngay được thì chọn tốc độ tối đa do khách hàng yêu cầu.

+Xác định số mức tốc độ cần hiệu chuẩn:

• Chia đều thang tốc độ thành 5 mức: nhỏ nhất, khoảng 25% của mức tối đa, khoảng 50% mức tối đa, khoảng 75% mức tối đa, mức tối đa. Tại mỗi mức, hiệu chuẩn viên có thể linh hoạt làm tròn lên hoặc xuống giá trị vòng quay để phù hợp với việc cài đặt trên thiết bị thực tế.

• Hoặc hiệu chuẩn tại các mức khác theo yêu cầu khách hàng.

+Tại mỗi mức tốc độ, cài đặt thời gian tính từ khi đạt tốc độ cài đặt đến trước khi thiết bị giảm tốc độ kết thúc chu trình tối thiểu là 10 phút.

+Vận hành thiết bị đo tốc độ vòng quay

+Tại mỗi mức tốc độ, sau khi đạt tốc độ cài đặt ít nhất 1 phút, bắt đầu ghi nhận lần lượt tốc độ hiển thị trên thiết bị được hiệu chuẩn – tốc độ đo được hiển thị trên phương tiện đo (gọi là một lần đọc), thực hiện ít nhất 6 lần đọc cách nhau ít nhất 1 phút.

- Kiểm tra nhiệt độ

Cần tiến hành kiểm tra nhiệt độ của buồng ly tâm. Máy ly tâm lạnh được kiểm tra đo lường nhiệt độ theo trình tự, nội dung, phương pháp và các yêu cầu sau đây:

+Cố định 4 đầu dò của nhiệt kế tại các vị trí nằm cách đều nhau trong buồng ly tâm bằng băng dính chuyên dụng, phân bố đều theo hình tròn trên nắp máy hoặc dưới đáy máy (qua khe thoát nước). Các đầu dò nhiệt tuyệt đối không chạm vào cơ cấu quay và thành trong của buồng ly tâm.

+Lựa chọn 3 giá trị là nhiệt độ thấp nhất, nhiệt độ cao nhất và nhiệt độ trung bình nằm trong phạm vi điều chỉnh nhiệt độ của thiết bị để tiến hành hiệu chuẩn nhiệt độ. Trong trường hợp khách hàng yêu cầu hiệu chuẩn tại các điểm nhiệt độ cụ thể, hoặc thiết bị chỉ có một mức nhiệt cố định thì tiến hành đo kiểm tại các điểm nhiệt độ đó. Tại mỗi điểm nhiệt cần hiệu chuẩn, hiệu chuẩn viên có thể linh hoạt làm tròn lên hoặc xuống giá trị nhiệt độ để phù hợp với việc cài đặt trên thiết bị thực tế.

+Cài đặt nhiệt độ lần lượt từ giá trị thấp đến giá trị cao. Ở mỗi điểm nhiệt độ cần hiệu chuẩn, vận hành thiết bị và cài đặt giá trị nhiệt độ theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

+Kiểm tra nhiệt độ của buồng ly tâm ở trạng thái động – trong quá trình quay ly tâm: phép đo động thực hiện khi đã mở chế độ gia nhiệt trước khi thực hiện quay và đo.



Thời gian chờ gia nhiệt đến khi đạt dựa theo hướng dẫn sử dụng nhà sản xuất hoặc theo khách hàng thường dùng. Ta lựa chọn và cài đặt tốc độ ly tâm mà người sử dụng thường dùng hoặc chọn tốc độ quay ly tâm thấp nhất, thời gian quay ly tâm cho mỗi điểm nhiệt là 10 phút. Vận hành thiết bị, giá trị nhiệt độ của buồng ly tâm trong suốt quá trình vận hành được ghi lại với chu kỳ lấy mẫu là 1 phút / 1 giá trị.

+ Ghi nhận 10 giá trị hiển thị nhiệt độ của máy ly tâm từ thời điểm ổn định nhiệt và bắt đầu đo, tương ứng 1 phút / 1 giá trị.

## 4.2. Nhận định kết quả

### 4.2.1 Tính toán kết quả hiệu chuẩn

#### a. Xác định số hiệu chính tại mỗi mức tốc độ vòng quay kiểm tra

- Tốc độ trung bình đo được ( $\overline{r_{ch}}$ ) tại mỗi mức tốc độ kiểm tra, được tính theo công thức:

$$\overline{r_{ch}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (r_i + \Delta r_{ch})$$

Trong đó:

n: là tổng số lần đo (tương ứng n = 6 lần đo) tại mỗi mức tốc độ kiểm tra.

$r_i$ : là tốc độ ghi được ở lần đo thứ i tại mỗi mức tốc độ kiểm tra (i = 1, 2, ..., 6).

$\Delta r_{CH}$ : là số hiệu chính của phương tiện đo tại mỗi mức tốc độ kiểm tra (xem giấy chứng nhận hiệu chuẩn của phương tiện đo).

- Số hiệu chính của tốc độ vòng quay ( $\Delta r$ ) tại mỗi mức tốc độ kiểm tra, được tính theo công thức:

$$\Delta r = \overline{r_{ch}} - r$$

Trong đó:

$\overline{r_{ch}}$ : giá trị trung bình tốc độ ghi được ở mức tốc độ kiểm tra

r: giá trị tốc độ cài đặt của thiết bị

Lưu ý:

- Số hiệu chính ( $\Delta r$ ) tại mỗi mức tốc độ kiểm tra không được vượt quá giá trị sai số cho phép (tương ứng với độ chính xác) của máy.

#### b. Xác định số hiệu chính tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra:

- Số hiệu chính tại mỗi điểm nhiệt độ được xác định theo công thức:

$$\Delta t = \overline{t_{ch}} - \overline{t_{ht}}$$

Trong đó:

$\overline{t_{ch}}$ : là nhiệt độ trung bình của nhiệt kế chuẩn

$\overline{t_{ht}}$ : là nhiệt độ trung bình hiển thị của thiết bị cần hiệu chuẩn

+ Số hiệu chính ( $\Delta t$ ) tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra không được vượt quá giá trị

sai số cho phép (tương ứng với độ chính xác) của thiết bị.

- Giá trị trung bình của các nhiệt kế chuẩn ( $\overline{t_{ch}}$ ) tại mỗi điểm kiểm tra được tính theo công thức:

$$\overline{t_{ch}} = \frac{1}{k} \sum_{j=1}^k \overline{t_j}$$

*Trong đó:*

$k$ : số lượng nhiệt kế chuẩn (với  $k = 4$ )

$\overline{t_j}$ : Giá trị trung bình của mỗi nhiệt kế chuẩn (chỉ thị chuẩn), còn gọi là nhiệt độ trung bình của nhiệt kế chuẩn thứ  $j$ , tính theo công thức:

$$\overline{t_j} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (t_j + \partial t_j)_i$$

*Trong đó :*

$\partial t_j$ : Số hiệu chỉnh của nhiệt kế chuẩn thứ  $j$  tại điểm nhiệt độ kiểm tra (xem giấy chứng nhận hiệu chuẩn của nhiệt kế thứ  $j$ ).

$n$ : Số lần đo của mỗi nhiệt kế chuẩn tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra

- Giá trị trung bình của chỉ thị nhiệt độ trên thiết bị ( $\overline{t_{ht}}$ ) tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra, được tính theo công thức:

$$\overline{t_{ht}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i$$

$t_i$ : là giá trị nhiệt độ hiển thị trên thiết bị.

$n$ : là số lần đọc của giá trị nhiệt độ hiển thị trên thiết bị tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra.

- Xác định độ ổn định nhiệt ( $\delta t_{od}$ )

Độ ổn định nhiệt của thiết bị tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{od} = \pm \frac{1}{2} \max (t_{max,j} - t_{min,j})$$

*Trong đó:*

$\delta t_{od}$ : Độ ổn định nhiệt của thiết bị tại nhiệt độ kiểm tra

$t_{max,j}; t_{min,j}$ : Nhiệt độ cao nhất và thấp nhất của nhiệt kế chuẩn thứ  $j$  tại điểm nhiệt độ kiểm tra

- Xác định độ đồng đều nhiệt của thiết bị ở từng trạng thái ( $\delta t_{ad}$ )

Độ đồng đều nhiệt của thiết bị tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{ad} = \pm \frac{1}{2} \max [\max (t_i) - \min (t_i)]$$

*Trong đó:*

$\delta t_{ad}$ : Độ đồng đều nhiệt của thiết bị

$\max(\bar{t}_j)$ ;  $\min(\bar{t}_j)$ : Nhiệt độ trung bình lớn nhất và nhỏ nhất trong k nhiệt kế.

4.2.2 Đánh giá độ không đảm bảo đo

a. *Đánh giá độ không đảm bảo đo của giá trị tốc độ vòng quay*

- **Tính độ KĐBĐ thành phần:**

$$\bar{X} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

+ Tính giá trị trung bình:

$$s = \sqrt{\frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + \dots + (x_n - \bar{x})^2}{n-1}}$$

+ Tính độ lệch chuẩn:

+ Tính độ KĐBĐ thành phần:

Độ không đảm bảo đo loại A do lặp lại của n lần ( $u_A$ ):

$$u_A = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

*Trong đó:*

$x_i$ : giá trị ở lần đo thứ i ( $i = 1, 2, \dots, n$ )

$\bar{x}$ : giá trị trung bình của n lần đo

n: số lần đo (số lần lặp lại)

Độ không đảm bảo đo do độ phân giải d của thiết bị ( $u_{B1}$ ):

+ Với PTĐ có chỉ thị số

$$u_{B1} = \frac{d}{2\sqrt{3}}$$

+ Với PTĐ có chỉ thị cơ học

$$u_{B1} = \frac{d}{10\sqrt{3}}$$

+ Đối với thiết bị không có chỉ thị giá trị tốc độ cài đặt: quy ước  $d=0$

Độ không đảm bảo đo do chuẩn đo lường  $u_{B2}$ :

$$u_{B2} = \frac{U_{exp}}{2}$$

Với  $U_{exp}$ : là độ không đảm bảo đo mở rộng của chuẩn đo lường tại mức đo tương ứng, xem trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn của thiết bị.

- Tính độ KĐBĐ tổng hợp  $u_C$  và mở rộng  $U_{exp,LTL,VQ}$ :



$$u_c = \sqrt{u_A^2 + u_{B1}^2 + u_{B2}^2}$$

$$U_{\text{exp.LTL.VQ}} = k \times u_c \quad (k=2, p \sim 95\%)$$

$$\text{hoặc } U(\%) = [(k \cdot u_c) \times 100] / T_{\text{rpm}}$$

Trong đó:  $T_{\text{rpm}}$  là giá trị tốc độ vòng quay được cài đặt

*b. Đánh giá độ không đảm bảo đo của giá trị nhiệt độ*

Độ không đảm bảo đo của giá trị nhiệt độ được tính toán từ các sai số ảnh hưởng đến các phép đo nhiệt độ khi hiệu chuẩn, gồm các thành phần trong Bảng 3 sau đây:

**Bảng 3**

STT	Nguồn gốc gây ra độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ)	Ký hiệu
<b>I</b>	<b>Tổ hợp chuẩn</b>	<b><math>u_{ch}</math></b>
1	Độ tán mạn của kết quả đo	$u_{ch1}$
2	Chỉ thị nhiệt độ chuẩn (cùng với nhiệt kế chuẩn)	$u_{ch2}$
<b>II</b>	<b>Thiết bị</b>	<b><math>u_{bk}</math></b>
1	Độ tán mạn của kết quả đo	$u_{bk1}$
2	Độ ổn định	$u_{bk2}$
3	Độ đồng đều	$u_{bk3}$
4	Độ phân giải	$u_{bk4}$
<b>III</b>	<b>ĐKĐBĐ tổng hợp</b>	<b><math>u_c</math></b>
<b>IV</b>	<b>ĐKĐBĐ mở rộng</b>	<b><math>U_{\text{exp}}</math></b>

- Độ không đảm bảo đo của tổ hợp chuẩn:  $u_{ch}$

Thành phần này được tính toán từ hai thành phần:

• Độ không đảm bảo đo ( $u_{ch1}$ ) tính từ độ tán mạn số đọc của các nhiệt kế chuẩn tại  $k$  vị trí ghi nhiệt độ

• Độ không đảm bảo đo ( $u_{ch2}$ ) của tổ hợp chuẩn, gồm các thiết bị đo với các nhiệt kế chuẩn.

$$u_{ch} = \sqrt{u_{ch1}^2 + u_{ch2}^2}$$

+ Độ không đảm bảo đo ( $u_{ch1}$ ) tính từ độ tán mạn số đọc của các nhiệt kế chuẩn tại  $k$  vị trí ghi nhiệt độ, được tính theo công thức:

$$u_{ch1} = \sqrt{\sum_{j=1}^k u_{ch1,j}^2}$$

Ở đây  $u_{ch1,j}$  là độ không đảm bảo đo của nhiệt kế chuẩn thứ  $j$ , có công thức:

$$u_{ch1,j} = \sqrt{\frac{S_j^2}{n}}$$

Trong đó:  $S_j$  là độ lệch chuẩn của nhiệt kế chuẩn thứ  $j$ , tính cho  $n$  lần đọc, theo công thức:

$$u_{ch1,j} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (t_{i,j} - \bar{t}_j)^2}{(n-1)}}$$

Giải thích các kí hiệu:

$n$ : Số lần đọc tại mỗi điểm,

$t_{i,j}$ : Lần đọc thứ  $i$  của nhiệt kế chuẩn thứ  $j$ ,

$\bar{t}_j$ : Nhiệt độ trung bình tại điểm kiểm tra của nhiệt kế chuẩn thứ  $j$ .

+ Độ không đảm bảo đo ( $u_{ch2}$ ) của tổ hợp chuẩn, gồm các thiết bị đo với các nhiệt kế chuẩn.

$$u_{ch2} = \frac{U_{exp}}{2}$$

Với  $U_{exp}$  là độ không đảm bảo mở rộng của tổ hợp đo với các nhiệt kế chuẩn (lấy giá trị của tổ hợp chuẩn có giá trị lớn nhất).

- Độ không đảm bảo đo của thiết bị:  $u_{bk}$

Độ không đảm bảo đo chuẩn liên hợp của thiết bị:

$$u_{bk} = \sqrt{u_{bk1}^2 + u_{bk2}^2 + u_{bk3}^2 + u_{bk4}^2}$$

+ Độ không đảm bảo đo của thiết bị ( $u_{bk1}$ ): tính từ độ tản mạn của thiết bị máy ly tâm lạnh căn hiệu chuẩn, được tính theo công thức:

$$u_{bk1} = \sqrt{\frac{\sum_1^N S_j^2}{n}}$$

Trong đó:  $S_j$  là độ lệch chuẩn tại điểm đo thứ  $N$ .  $n$  là số lần đọc tại mỗi điểm đo.

$$S_j = \sqrt{\frac{\sum_1^n (t_i - \bar{t})^2}{(n-1)}}$$

Giải thích các kí hiệu:

$n$ : Số lần đọc tại mỗi điểm nhiệt độ.

$t_i$ : Lần đọc thứ  $i$  của giá trị hiển thị trên thiết bị.

$\bar{t}$ : Nhiệt độ trung bình tại điểm nhiệt độ kiểm tra.

+ Độ không đảm bảo đo tính theo độ ổn định:  $u_{bk2}$

$$u_{bk2} = \frac{\delta t_{od}}{\sqrt{3}}$$

+ Độ không đảm bảo đo tính theo độ đồng đều:  $u_{bk3}$

$$u_{bk3} = \frac{\delta t_{dd}}{\sqrt{3}}$$

+ Độ không đảm bảo đo theo độ phân giải của chỉ thị thiết bị:  $u_{bk4}$

Đối với chỉ tương tự:

$$u_{bk4} = \frac{d}{10\sqrt{3}}$$

Đối với chỉ thị hiện số:

$$u_{bk4} = \frac{d}{2\sqrt{3}}$$

Trong đó:

$d$ : Độ phân giải của chỉ thị nhiệt độ trên thiết bị.

*c. Độ không đảm bảo đo tổng hợp ( $u_c$ ) được tính theo công thức:*

$$u_c = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{bk}^2}$$

*d. Độ không đảm bảo đo mở rộng ( $U_{exp.LIL.N}$ ) được tính theo công thức:*

$$U_{exp.LIL.N} = k \cdot u_c$$

Trong đó:

$k$ : là hệ số bao phủ (chọn  $k=2$ , xác suất tin cậy  $P=95\%$ )

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

Trả kết quả theo theo biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm
2	Biểu mẫu biên bản hiệu chuẩn máy ly tâm lạnh
3	Giấy chứng nhận hiệu chuẩn



## 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn	Bản giấy	5 năm
2	Biểu mẫu biên bản hiệu chuẩn....	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn	Bản giấy	5 năm
3	Giấy chứng nhận hiệu chuẩn	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn, cơ sở sử dụng	Bản giấy	5 năm

**5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ****5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật**

Không áp dụng

**5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật**

Không áp dụng

**5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

Không áp dụng

**6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG****6.1. Nội kiểm chất lượng**

Không áp dụng

**6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù**

So sánh song phương với phòng thí nghiệm cung cấp dịch vụ hiệu chuẩn đã được công nhận

**7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- FQI ISO 15189 IA & QMS certificate course, 22/02/2014.
- APPENDIX D – USFWS QA Program.
- TR 45-02, Criteria for laboratories accredited to calibrate tachometers, centrifuges and measure rotational speed.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 277:  
HIỆU CHUẨN NỘI HẤP TIỆT TRÙNG**

**1. ĐẠI CƯƠNG**

**1.1. Mục đích**

Quy định các bước thực hiện để hiệu chuẩn lò hấp tiệt trùng

**1.2. Định nghĩa**

1.2.1. Định nghĩa

- Độ không đảm bảo đo: thông số không âm đặc trưng cho sự phân tán của các giá trị đại lượng được qui cho đại lượng đo, trên cơ sở thông tin đã sử dụng.

- Giá trị đo trung bình: Trung bình của các giá trị đo được, sau khi ổn định, ghi nhận bởi các phương tiện chuẩn từ hoạt động của thiết bị cần hiệu chuẩn.

- Số hiệu chính của giá trị đo: Giá trị sai lệch giữa giá trị trung bình đo được với giá trị hiển thị trên thiết bị.

1.2.2. Từ viết tắt

Không áp dụng

**1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng

**2. CHUẨN BỊ**

**2.1. Người thực hiện**

- Nhân sự được đào tạo chuyên ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn, trong đó:

+ Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị thiết bị chuẩn, dụng cụ và các công việc hành chính: 1 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên

+ Thực hiện hiệu chuẩn: 2 nhân sự trình độ đại học trở lên

+ Xem xét, kiểm tra kết quả: 1 nhân sự trình độ đại học trở lên

+ Phê duyệt kết quả: 2 nhân sự trình độ đại học trở lên

**2.2. Vật tư:**

2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất:

Không áp dụng

2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Giấy, bút, thước đo, đèn pin, cồn 70°...

- Găng tay chịu nhiệt, giày bảo hộ, kính, khẩu trang y tế, trang thiết bị bảo hộ lao động khác,...

### 2.3. Thiết bị

- Thiết bị đo điện đa năng
- Bộ thiết bị đo nhiệt độ, áp suất không dây
- Máy tính xách tay
- Bộ dụng cụ cơ khí
- Đồng hồ điện tử

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có

#### 2.4.1. Đối với QTKT lấy mẫu bệnh phẩm hoặc mẫu xét nghiệm:

Không áp dụng

#### 2.4.2. Đối với QTKT về thực hiện xét nghiệm (chuẩn bị mẫu hoặc mẫu bệnh phẩm trước khi xét nghiệm)

- Trước khi tiến hành hiệu chuẩn, phải đảm bảo lò hấp ở tình trạng hoạt động bình thường, đảm bảo các yếu tố về an toàn và vệ sinh;

- Đề nghị khách hàng cung cấp tài liệu kỹ thuật của lò hấp (nếu có).

- Thiết bị phải có đầy đủ nhãn sản xuất và hướng dẫn sử dụng

+ Thiết bị phải có đầy đủ nhãn sản xuất và hướng dẫn sử dụng;

+ Trường hợp không có sách hướng dẫn sử dụng, hiệu chuẩn viên có thể tải tài liệu trên trang thông tin điện tử của thiết bị về để xem hoặc từ chối hiệu chuẩn nếu không đủ thông tin cần thiết.

+ Trường hợp thiết bị không có đầy đủ nhãn, hoặc nhãn bị bong tróc không ghi nhận được mã số nhận dạng thiết bị: model (kiểu mẫu), serial number (số định danh thiết bị), số nhận dạng thiết bị của khách hàng (ID), hiệu chuẩn viên xử lý theo hướng dẫn HD02 (Hướng dẫn về xử lý thiết bị không đầy đủ thông tin nhận dạng)

+ Trường hợp thiết bị có nhiều khoang riêng biệt với hệ thống cài đặt nhiệt độ riêng cho từng khoang thì xem mỗi khoang là một tủ nhiệt riêng biệt, mã nhận dạng được quy ước theo HD02 cho từng khoang.

- Màn hình hiển thị phải rõ ràng, đầy đủ; các cơ cấu chức năng, điều khiển phải hoạt động bình thường theo quy định của nhà sản xuất

### 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm nếu có

Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Thời gian thực hiện hiệu chuẩn nồi hấp tiết trùng: 11,75 giờ (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc)

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại cơ sở sử dụng

## 3. AN TOÀN



- Hiệu chuẩn viên phải thống nhất quy trình hiệu chuẩn với đại diện bên khách hàng: người vận hành thiết bị và phụ trách kỹ thuật (nếu cần).

- Hiệu chuẩn viên phải thực hiện đúng nội quy, quy định hiện hành tại khu vực làm việc của khách hàng;

- Hiệu chuẩn viên phải mang găng tay chịu nhiệt và các trang thiết bị bảo hộ lao động khác thích hợp;

- Làm vệ sinh trang thiết bị hiệu chuẩn bằng dung dịch khử trùng trước và sau khi hiệu chuẩn

#### **Điều kiện môi trường**

- Hiệu chuẩn ngay tại vị trí đặt lò hấp.

- Vị trí hiệu chuẩn phải đủ rộng có thể lắp đặt toàn bộ hệ thống thiết bị thử và thiết bị đo, thuận tiện cho các thao tác hiệu chuẩn.

- Môi trường hiệu chuẩn phải thoáng khí, sạch sẽ.

- Nhiệt độ:  $+10^{\circ}\text{C} \sim +50^{\circ}\text{C}$ .

- Ẩm độ:  $\leq 90\% \text{ RH}$  (ở  $10^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$ ),  $\leq 75\% \text{ RH}$  (ở  $30^{\circ}\text{C} \sim 40^{\circ}\text{C}$ ),  $\leq 45\% \text{ RH}$  (ở  $40^{\circ}\text{C} \sim 50^{\circ}\text{C}$ ).

- Điện áp nguồn ổn định phù hợp yêu cầu nhà sản xuất.

### **4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **4.1. Các bước thực hiện:**

Chỉ tiến hành hiệu chuẩn khi các nội dung trên được thỏa mãn. Một trong các nội dung nêu trên không đảm bảo yêu cầu sẽ dừng hiệu chuẩn.

##### **4.1.1. Kiểm tra bên ngoài**

Kiểm tra bên ngoài theo các yêu cầu sau đây:

- Kiểm tra trực quan để xác định sự phù hợp của lò hấp đối với các yêu cầu quy định trong tài liệu kỹ thuật: hình dáng, kích thước, nguồn điện sử dụng, nhãn thông tin kỹ thuật nhà sản xuất, tài liệu và phụ tùng kèm theo, ...

- Kiểm tra trạng thái lắp đặt, tình trạng vận hành của lò hấp theo hướng dẫn sử dụng hoặc tài liệu kỹ thuật của nhà sản xuất

##### **4.1.2. Kiểm tra kỹ thuật**

Kiểm tra kỹ thuật theo các yêu cầu sau đây:

- Tình trạng của lò hấp khi mở nguồn

- Hệ điều khiển các chức năng của lò hấp như: màn hình cảm ứng, phím bấm, công tắc,...

- Các đồng hồ chỉ thị

- Chế độ báo động (nếu có).

- Nắp lò hấp

- Kiểm tra các yếu tố khác theo yêu cầu của nhà sản xuất (nếu có).

#### 4.1.3. Kiểm tra đo lường

Lò hấp được kiểm tra đo lường theo trình tự, nội dung, phương pháp và các yêu cầu sau đây:

a. Đo điện áp nguồn cấp

b. Đo cường độ dòng điện vào

c. Đo nhiệt độ, áp suất hấp tiết trùng:

- Mục đích: kiểm tra áp suất hơi nước bão hòa trong lò hấp và nhiệt độ tiết trùng.

- Cài đặt thiết bị đo

+ Sử dụng 03 nhiệt kế chuẩn không dây và 01 áp kế chuẩn không dây.

+ Khởi động phần mềm, cài đặt tần suất ghi số liệu là 1 phút /1 giá trị.

+ Ghi nhận giá trị áp suất môi trường

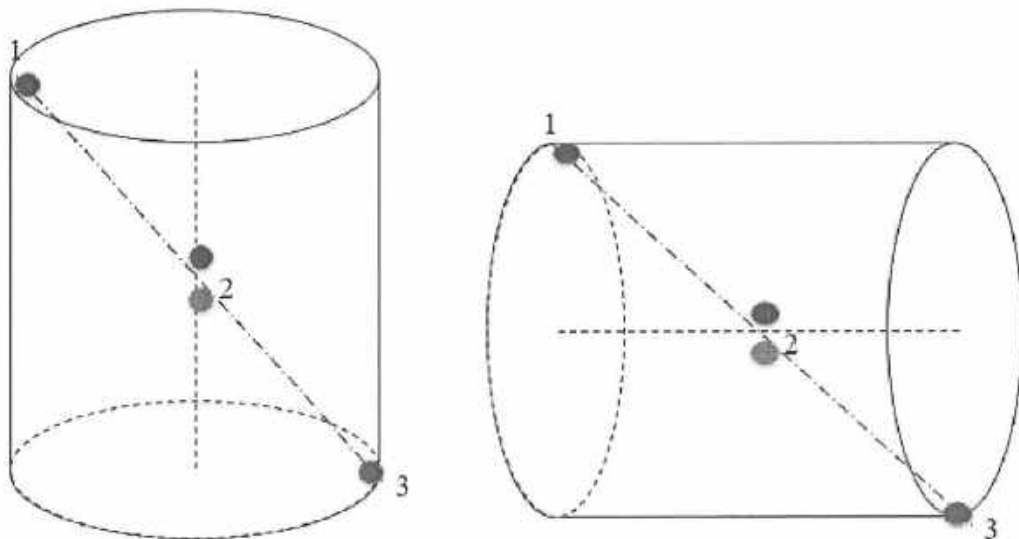
- Phương pháp đo

+ Bước 1: Sử dụng 3 nhiệt kế chuẩn, 1 áp kế chuẩn, bố trí chuẩn đo lường:

• 01 nhiệt kế chuẩn và 01 áp kế chuẩn đặt ở vị trí tâm hình học của lò hấp (đối với các kiểu lò ngang, đứng,...), 02 đầu ghi này đối xứng quanh vị trí trên và cách nhau khoảng 100 mm.

• 2 nhiệt kế chuẩn còn lại đặt ở 2 đầu theo chiều dài lò hấp, đảm bảo cách vách, nắp hoặc bộ phận gia nhiệt ở đáy nồi tối thiểu 100 mm (lưu ý không chạm mực nước trong nồi).

• Ghi chú vị trí đặt và mã số từng đầu dò chuẩn trong Biên bản Hiệu chuẩn.



+ Bước 2: Cài đặt thông số hấp tiết trùng theo một trong những quy trình sau:

• 121°C trong 20 phút.

• 134°C trong 10 phút.

• Hoặc theo chương trình hấp tự động của thiết bị, với mức nhiệt độ cài đặt tối

thiếu là 121°C.

+ Bước 3: Vận hành lò hấp theo hướng dẫn sử dụng

Lưu ý:

- Mục nước đảm bảo theo quy định;
- Nắp lò đã được đóng chặt theo quy định;
- Nắm rõ quy trình xử lý theo hướng dẫn sử dụng trong những trường hợp khẩn cấp.

+ Bước 4: Khi lò hấp vào giai đoạn duy trì nhiệt độ tiệt trùng, ghi nhận giá trị hiển thị của lò hấp.

+ Bước 5: Sau khi kết thúc quy trình, mở lò hấp theo hướng dẫn sử dụng và đảm bảo quy tắc an toàn khi vận hành lò hấp. Lấy các thiết bị chuẩn ra khỏi lò hấp và kết nối với máy tính để trích xuất các dữ liệu nhiệt độ, áp suất và thời gian ghi được.

- Thu nhận kết quả

+ Trong bảng dữ liệu trích xuất từ nhiệt kế chuẩn, giá trị nhiệt độ đầu tiên được ghi nhận là giá trị khi giai đoạn hấp tiệt trùng được kích hoạt.

+ Trong bảng dữ liệu trích xuất từ áp kế chuẩn, chọn giá trị áp suất đầu tiên tại cùng thời điểm của giá trị nhiệt độ đầu tiên đã xác định ở trên.

+ Chọn các giá trị nhiệt độ trong khoảng thời gian cài đặt hấp tiệt trùng, tính từ thời điểm xác định giá trị đầu tiên ở trên để đưa vào bảng tính:

- Đối với cài đặt 121°C trong 20 phút: lấy 20 giá trị tương ứng 1 phút/ 1 giá trị,
- Đối với cài đặt 134°C trong 10 phút lấy 10 giá trị tương ứng 1 phút/ 1 giá trị.
- Đối với chương trình cài đặt sẵn, trong thời gian mặc định lấy tối thiểu 5 giá trị, bước trích xuất dữ liệu là 1 phút/ 1 giá trị.

+ Ghi nhận thời gian tiệt trùng cài đặt.

## 4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xác định số hiệu chính của lò hấp tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra:

Số hiệu chính của lò hấp tại mỗi điểm nhiệt độ xác định theo công thức:

$$\Delta t = \overline{t_{ch}} - t$$

Trong đó:

$\overline{t_{ch}}$ : là nhiệt độ trung bình của nhiệt kế chuẩn

$t$ : là nhiệt độ cài đặt của thiết bị cần hiệu chuẩn

- Số hiệu chính ( $\Delta t$ ) tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra không được vượt quá giá trị sai số cho phép (tương ứng với độ chính xác) của lò hấp.

\* Giá trị trung bình của các nhiệt kế chuẩn ( $\overline{t_{ch}}$ ) tại mỗi điểm kiểm tra được tính theo công thức:



$$\bar{t}_{ch} = \frac{1}{k} \sum_{i=1}^k \bar{t}_i$$

Trong đó:

k: số lượng nhiệt kế chuẩn (với k = 3)

$\bar{t}_i$ : Giá trị trung bình của mỗi nhiệt kế chuẩn (chỉ thị chuẩn), còn gọi là nhiệt độ trung bình của nhiệt kế chuẩn thứ i tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra, tính theo công thức:

$$\bar{t}_i = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n (t_{i,j} + \partial t_i)$$

Với:

$\partial t_i$ : Số hiệu chỉnh của nhiệt kế chuẩn thứ i tại điểm nhiệt độ kiểm tra (xem giấy chứng nhận hiệu chuẩn của nhiệt kế thứ i).

n: Số lần đọc giá trị đo được tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra

#### 4.2.2. Xác định độ ổn định của lò hấp ( $\delta t_{od}$ )

Độ ổn định của lò hấp tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{od} = \pm \frac{1}{2} \max (t_{maxj} - t_{minj})$$

Trong đó:

$\delta t_{od}$ : Độ ổn định của lò hấp tại nhiệt độ kiểm tra

$t_{maxj}; t_{minj}$ : Nhiệt độ cao nhất và thấp nhất của nhiệt kế chuẩn thứ j tại điểm nhiệt độ kiểm tra

#### 4.2.3. Xác định độ đồng đều của lò hấp ( $\delta t_{dd}$ )

Độ đồng đều nhiệt độ của thiết bị tại mức cài đặt được xác định như sau:

$$\delta t_{dd} = \pm \frac{1}{2} \max [\max (t_i) - \min (t_i)]$$

Trong đó:

$\delta t_{dd}$ : Độ đồng đều của thiết bị tại mức cài đặt.

$\max(t_i); \min(t_i)$ : Nhiệt độ lớn nhất và nhỏ nhất tại thời điểm thứ i của tất cả các nhiệt kế

#### 4.2.4. Tính toán giá trị áp suất

$\bar{p}$ : **Giá trị trung bình của áp kế chuẩn** (chỉ thị chuẩn), còn gọi là áp suất trung bình của áp kế chuẩn tại điểm áp suất kiểm tra, tính theo công thức:

$$\bar{p} = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n (p_j + \partial p)$$

Trong đó:

$\partial p$ : Số hiệu chính của áp kế chuẩn tại điểm áp suất kiểm tra (xem giấy chứng nhận hiệu chuẩn của áp kế).

$n$ : Số lần đo của áp kế chuẩn tại điểm áp suất kiểm tra.

4.2.5. Tính toán phần trăm thời gian đạt nhiệt độ tiết trùng:

$$T(\%) = \frac{T_d}{T_s} 100\%$$

Trong đó:

$T_d$ : tổng thời gian đạt nhiệt độ tiết trùng đo được

$T_s$ : thời gian tiết trùng cài đặt

4.2.6. Đánh giá độ không đảm bảo đo

Độ không đảm bảo đo của phép hiệu chuẩn lò hấp được tính toán từ các sai số ảnh hưởng đến các phép đo nhiệt độ khi hiệu chuẩn, gồm các thành phần trong Bảng 1 sau đây:

Bảng 1

STT	Nguồn gốc gây ra độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ)	Ký hiệu	Theo điều mục
<b>I</b>	<b>Tổ hợp chuẩn</b>	<b><math>u_{ch}</math></b>	<b>4.2.6.1</b>
1	Độ tản mạn của kết quả đo	$u_{ch1}$	4.2.6.1.1
2	Chỉ thị nhiệt độ chuẩn (cùng với nhiệt kế chuẩn)	$u_{ch2}$	4.2.6.1.2
<b>II</b>	<b>Lò hấp</b>	<b><math>u_{bk}</math></b>	<b>4.2.6.2</b>
1	Độ ổn định	$u_{bk1}$	4.2.6.2.1
2	Độ đồng đều	$u_{bk2}$	4.2.6.2.2
3	Độ phân giải	$u_{bk3}$	4.2.6.2.3
<b>III</b>	<b>ĐKĐBĐ tổng hợp</b>	<b><math>u_C</math></b>	<b>4.2.6.3</b>
<b>IV</b>	<b>ĐKĐBĐ mở rộng</b>	<b><math>U_{exp}</math></b>	<b>4.2.6.4</b>

a. Độ không đảm bảo đo của tổ hợp chuẩn:  $u_{ch}$

- Thành phần này được tính toán từ hai thành phần: độ không đảm bảo chuẩn loại A ( $u_{ch1}$ ) tính từ độ tản mạn số đọc của các nhiệt kế chuẩn tại vị trí của tủ nhiệt và độ không đảm bảo đo của tổ hợp chuẩn, gồm các thiết bị đo với các nhiệt kế chuẩn, loại B ( $u_{ch2}$ ).

$$u_{ch} = \sqrt{u_{ch1}^2 + u_{ch2}^2}$$

+ Độ không đảm bảo chuẩn loại A của chỉ thị các nhiệt kế chuẩn, tính theo công thức:

$$u_{ch1} = \sqrt{\sum_{j=1}^k u_{ch1,j}^2}$$

Ở đây  $u_{ch1,j}$  là độ không đảm bảo chuẩn loại A của nhiệt kế chuẩn thứ j, có công thức:

$$u_{ch1,j} = \sqrt{\frac{S_j^2}{n}}$$

Trong đó:  $S_j$  là độ lệch chuẩn của nhiệt kế chuẩn thứ j, tính cho n lần đọc, theo công thức:

$$S_j = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (t_{i,j} - \bar{t}_j)^2}{(n-1)}}$$

Giải thích các kí hiệu:

$n$ : Số lần đọc tại mỗi điểm,

$t_{i,j}$ : Lần đọc thứ i của nhiệt kế chuẩn thứ j,

$\bar{t}_j$ : Nhiệt độ trung bình tại điểm kiểm tra của nhiệt kế chuẩn thứ j.

- Độ không đảm bảo của tổ hợp chuẩn, gồm thiết bị chỉ thị đo với các nhiệt kế chuẩn:  $u_{ch2}$

$$u_{ch2} = \frac{U_{exp}}{2}$$

Với  $U_{exp}$  là độ không đảm bảo mở rộng của tổ hợp đo với các nhiệt kế chuẩn (lấy giá trị của tổ hợp chuẩn có giá trị lớn nhất).

b. Độ không đảm bảo đo của lò hấp:  $u_{bk}$

- Độ không đảm bảo đo chuẩn liên hợp của lò hấp:

$$u_{bk} = \sqrt{u_{bk1}^2 + u_{bk2}^2 + u_{bk3}^2}$$

- Độ không đảm bảo đo tính theo độ ổn định:  $u_{bk1}$

$$u_{bk1} = \frac{\delta t_{od}}{\sqrt{3}}$$

- Độ không đảm bảo đo tính theo độ đồng đều:  $u_{bk2}$



$$u_{bk2} = \frac{\delta t_{dd}}{\sqrt{3}}$$

- Độ không đảm bảo do theo độ phân giải của chỉ thị lò hấp:  $u_{bk3}$

Đối với chỉ tương tự:

$$u_{bk3} = \frac{d}{10\sqrt{3}}$$

Đối với chỉ thị hiện số:

$$u_{bk3} = \frac{d}{2\sqrt{3}}$$

Trong đó:

d: Độ phân giải chỉ thị của lò hấp.

c. Độ không đảm bảo đo tổng hợp ( $u_c$ ) được tính theo công thức:

$$u_c = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{bk}^2}$$

d. Độ không đảm bảo đo mở rộng ( $U_{exp.TN}$ ) được tính theo công thức:

$$U_{exp.TN} = k \cdot u_c$$

Trong đó:

k: là hệ số bao phủ (chọn  $k=2$ , xác suất tin cậy  $P=95\%$ )

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

Trả kết quả theo biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm
2	Biểu mẫu biên bản hiệu chuẩn Nồi hấp tiệt trùng
3	Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

#### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn	Bản giấy	5
2	Biểu mẫu biên bản hiệu	Phòng thí nghiệm hiệu	Bản giấy	5

*Handwritten signatures and initials in blue ink.*

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
	chuẩn Nội hấp tiệt trùng	chuẩn		
3	Giấy chứng nhận hiệu chuẩn	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn, cơ sở sử dụng	Bản giấy	5

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

Không áp dụng

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm chất lượng

Không áp dụng

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

So sánh song phương với phòng thí nghiệm cung cấp dịch vụ hiệu chuẩn đã được công nhận

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- TCVN 6792:2001 Thiết bị hấp tiệt trùng.
- BS 2646: Part 5: 1993 Autoclaves for sterilization.
- ISO 11197: 1996 Thiết bị điện dùng trong y tế - Yêu cầu an toàn.
- BS EN 285: 2006 + A2: 2009. Sterilization – Steam sterilizers – Lager Sterilizers.
- Mike Finger, Don Drew, 2007. Steam Sterilization and the 2007 Revision of PDA Technical Report 1.

## Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 278:

**HIỆU CHUẨN MÁY REALTIME PCR – THÔNG SỐ NHIỆT ĐỘ****1. ĐẠI CƯƠNG****1.1. Mục đích**

Quy trình này mô tả phương pháp hiệu chuẩn các loại máy xét nghiệm Realtime PCR (Realtime Polymerase Chain Reaction) dùng trong y tế.

**1.2. Định nghĩa****1.2.1. Định nghĩa**

- *Thiết bị*: sử dụng điện để gia nhiệt hoặc giảm nhiệt, kiểm soát nhiệt độ chính xác, thay đổi nhiệt độ nhanh chóng. Các buồng ủ nhiệt dạng nhiều giếng nhiệt chứa ống đựng mẫu, hệ thống đo và điều khiển nhiệt độ theo giá trị đặt. Điển hình là máy xét nghiệm Realtime PCR, với buồng ủ nhiệt có khả năng thực hiện chương trình luân nhiệt tương tự máy PCR thông thường, nhưng tích hợp thêm phần Real-time. Thành phần Real-time bao gồm một hệ thống quang học với hai chức năng: (1) Có các nguồn sáng phát ra được các tia sáng kích thích (excitation light) có bước sóng xác định lên các ống mẫu trong phản ứng real-time PCR; (2) Sau khi mẫu phản ứng với tia sáng kích thích, hệ thống quang học sử dụng camera hay cảm biến quang ghi nhận được ánh sáng huỳnh quang phát ra (emission light) từ các ống mẫu trong quá trình phản ứng real-time PCR.

- *Độ không đảm bảo đo*: thông số không âm đặc trưng cho sự phân tán của các giá trị đại lượng được qui cho đại lượng đo, trên cơ sở thông tin đã sử dụng.

- *Nhiệt độ cài đặt (temperature setpoint)*: Nhiệt độ mong muốn được thiết lập bởi các kiểm soát của máy xét nghiệm Realtime PCR.

- *Độ ổn định nhiệt độ (temperature stabilization)*: Nhiệt độ mà tại đó tất cả các điểm trong không gian làm việc đã đạt tới và duy trì nhiệt độ đặt trong khoảng dung sai đã cho.

- *Biến động nhiệt độ (temperature fluctuation)*: Chênh lệch, sau khi ổn định, giữa nhiệt độ lớn nhất và nhiệt độ nhỏ nhất tại bất kỳ điểm nào trong không gian làm việc trong khoảng thời gian quy định.

- *Peltier*: tấm bán dẫn còn gọi là sò nóng – lạnh. Là cấu kiện bán dẫn có tính làm lạnh một mặt, mặt còn lại được làm nóng.

- *Giếng nhiệt*: các lỗ để chứa các ống đựng mẫu

**1.2.2. Từ viết tắt**

- NK: cặp nhiệt điện (đầu ghi nhiệt độ).

- CH: chuẩn đo lường (gồm cặp nhiệt điện và thiết bị cài đặt/truy xuất dữ liệu từ đầu ghi)

- TN: thiết bị cần hiệu chuẩn.

**1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng



## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Nhân sự được đào tạo chuyên ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn, trong đó:

+ Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị thiết bị chuẩn, dụng cụ và các công việc hành chính: 1 nhân sự trình độ cao đẳng trở lên

+ Thực hiện hiệu chuẩn: 2 nhân sự trình độ đại học trở lên

+ Xem xét, kiểm tra kết quả: 1 nhân sự trình độ đại học trở lên

+ Phê duyệt kết quả: 2 nhân sự trình độ đại học trở lên

### 2.2. Vật tư:

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Cồn 70 độ: Loại cồn ethanol 70% có tác dụng sát khuẩn, làm sạch bề mặt dụng cụ và phòng thí nghiệm.

- Dầu chuyên dụng - Silicone oil 200.10: Thành phần Silicone polymer, độ nhớt 10 cSt (centistokes), không có tạp chất gây ảnh hưởng đến phản ứng sinh hóa, dùng để che phủ phản ứng PCR nhằm ngăn bay hơi, giúp duy trì ổn định nhiệt độ. Bảo quản ở nhiệt độ phòng, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng.

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Giấy, bút

- Khẩu trang y tế

### 2.3. Thiết bị

TT	Phương tiện hiệu chuẩn/thiết bị	Phạm vi đo/ độ phân giải
1	Thiết bị đo điện đa năng	
2	Nhiệt kế điện tử	-50°C đến 250°C
3	Bộ dụng cụ cơ khí	
4	Máy tính xách tay	
5	Đèn pin, thước đo	
6	Trang thiết bị bảo hộ lao động khác (găng tay chịu nhiệt, giày bảo hộ, kính)	

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có

- Trước khi tiến hành hiệu chuẩn, phải đảm bảo thiết bị ở tình trạng hoạt động bình thường, đảm bảo các yếu tố về an toàn và vệ sinh

- Đề nghị khách hàng cung cấp tài liệu kỹ thuật của thiết bị (nếu có).

- Thiết bị phải có đầy đủ nhãn sản xuất và hướng dẫn sử dụng
- Trường hợp không có sách hướng dẫn sử dụng, hiệu chuẩn viên có thể tải tài liệu trên trang tin điện tử của thiết bị về để xem hoặc từ chối hiệu chuẩn nếu không đủ thông tin cần thiết

- Trường hợp thiết bị không có đầy đủ nhãn, hoặc nhãn bị bong tróc không ghi nhận được mã số nhận dạng thiết bị: model (kiểu mẫu), serial number (số định danh thiết bị), số nhận dạng thiết bị của khách hàng (ID) thì hiệu chuẩn viên thực hiện cấp mã số nhận dạng theo mẫu của đơn vị thực hiện hiệu chuẩn

- Màn hình hiển thị phải rõ ràng, các cơ cấu chức năng, điều khiển phải hoạt động bình thường theo quy định của nhà chế tạo

### 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm nếu có

- Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Trong thời gian là 12,25 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- ✦ Tại Cơ sở sử dụng

## 3. AN TOÀN

- Hiệu chuẩn viên phải thống nhất quy trình hiệu chuẩn với đại diện bên khách hàng: người vận hành thiết bị và phụ trách kỹ thuật (nếu cần).

- Hiệu chuẩn viên phải thực hiện đúng nội quy, quy định hiện hành tại khu vực làm việc của khách hàng;

- Hiệu chuẩn viên phải mang găng tay chịu nhiệt và các trang thiết bị bảo hộ lao động khác thích hợp;

- Làm vệ sinh trang thiết bị hiệu chuẩn bằng dung dịch khử trùng trước và sau khi hiệu chuẩn.

- Vị trí hiệu chuẩn phải đủ rộng có thể lắp đặt toàn bộ hệ thống thiết bị thử và thiết bị đo, thuận tiện cho các thao tác hiệu chuẩn.

- Môi trường hiệu chuẩn phải thoáng khí, sạch sẽ.

- Nhiệt độ:  $+10^{\circ}\text{C} \sim +50^{\circ}\text{C}$ .

- Ẩm độ:  $\leq 70\% \text{ RH}$

- Điện áp nguồn ổn định phù hợp yêu cầu nhà sản xuất.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện:

#### 4.1.1 Kiểm tra bên ngoài

- Kiểm tra trực quan để xác định sự phù hợp của thiết bị đối với các yêu cầu quy định trong tài liệu kỹ thuật: hình dáng, các đồng hồ chỉ thị, nguồn điện sử dụng, nhãn thông tin kỹ thuật nhà sản xuất, tài liệu và phụ tùng kèm theo.

- Thiết bị không bị nứt vỡ, biến dạng, hư hỏng.
- Kiểm tra trạng thái lắp đặt, tình trạng vận hành của thiết bị theo hướng dẫn sử dụng hoặc tài liệu kỹ thuật của nhà sản xuất.

#### 4.1.2 Kiểm tra kỹ thuật:

- Tình trạng của thiết bị khi mở nguồn.
- Hệ điều khiển các chức năng của thiết bị như: màn hình cảm ứng, phím bấm, công tắc,...
- Các đồng hồ chỉ thị nhiệt độ ...
- Kiểm tra các yếu tố khác theo yêu cầu của nhà sản xuất (nếu có).

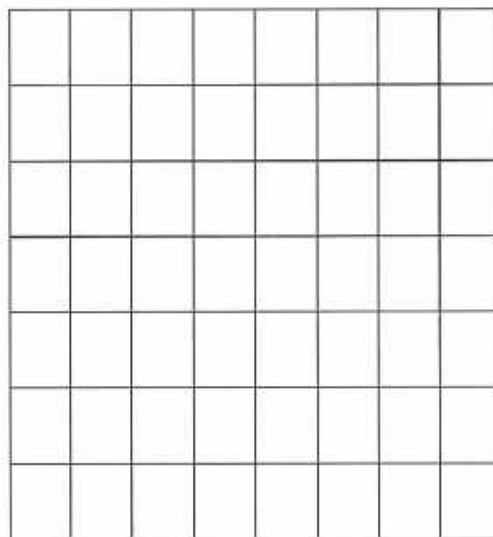
#### 4.1.3 Kiểm tra đo lường

Thiết bị được kiểm tra đo lường theo trình tự, nội dung, phương pháp và các yêu cầu sau đây:

- Đo điện áp nguồn cấp
- Đo cường độ dòng điện vào
- Kiểm tra đo lường nhiệt độ thiết bị:

Thiết bị được kiểm tra đo lường theo trình tự, nội dung, phương pháp và các yêu cầu sau đây:

- Sử dụng nhiệt kế điện tử đa kênh (số cảm biến nhiệt tùy theo số lượng giếng nhiệt)
- Cài đặt tần suất ghi số liệu là 2 giây/lần.
- Cảm biến nhiệt độ được nhúng trong dầu chuyên dụng đặt trực tiếp trong các giếng nhiệt. Vị trí cảm biến được bố trí thỏa mãn yêu cầu tại 4 góc, 4 cạnh và vị trí trung tâm.



Hình minh họa

- Cài đặt nhiệt độ kiểm tra: Cài đặt chương trình theo yêu cầu của khách hàng bao gồm điểm nhiệt độ, thời gian, số vòng lặp



- Cài đặt chu kỳ lấy mẫu 1 - 2 giây/lần, bắt đầu lấy mẫu tại mỗi điểm nhiệt độ khi nhiệt độ đã ổn định

- Sau khi kết thúc quy trình, mở thiết bị theo hướng dẫn sử dụng và đảm bảo quy tắc an toàn khi vận hành thiết bị

- Lấy cặp nhiệt điện ra khỏi thiết bị và kết nối với thiết bị đọc và máy tính để truy xuất và tính toán dữ liệu ghi được. Thu nhận kết quả: trong bảng dữ liệu trích xuất từ cặp nhiệt điện, giá trị đầu tiên ở mỗi mức nhiệt độ được ghi nhận là giá trị tại thời điểm ổn định nhiệt.

## 4.2. Nhận định kết quả

4.2.1 Xác định số hiệu chính của thiết bị tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra:

Số hiệu chính của thiết bị tại mỗi điểm nhiệt độ xác định theo công thức:

$$\Delta t = \overline{t_{ch}} - \overline{t_{tn}}$$

- Số hiệu chính ( $\Delta t$ ) tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra không được vượt quá giá trị sai số cho phép (tương ứng với độ chính xác) của Thiết bị.

- Ý nghĩa của giá trị sau khi hiệu chuẩn:

Giá trị nhiệt độ cài đặt cho thiết bị = Giá trị cài đặt hiển thị trên thiết bị + Số hiệu chính ( $\Delta t$ )

4.2.2 Giá trị trung bình của các cảm biến – cặp nhiệt điện ( $\overline{t_{ch}}$ ) tại mỗi điểm kiểm tra được tính theo công thức:

$$\overline{t_{ch}} = \frac{1}{k} \sum_{j=1}^k \overline{t_j}$$

Trong đó:

k: số lượng cặp nhiệt điện

$\overline{t_j}$ : Giá trị trung bình của mỗi cặp nhiệt điện (chỉ thị chuẩn), còn gọi là nhiệt độ trung bình của cặp nhiệt điện chuẩn thứ  $j$  tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra, tính theo công thức:

$$\overline{t_j} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (t_j \pm \partial t_j)_i$$

Với:

$\partial t_j$ : Số hiệu chính của cặp nhiệt điện thứ  $j$  tại điểm nhiệt độ kiểm tra (xem theo giấy chứng nhận hiệu chuẩn của cặp nhiệt điện thứ  $j$ ).

$n$ : Số lần đo của mỗi điểm cặp nhiệt điện tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra

Lưu ý: Giá trị  $\overline{t_{ch}}$  sẽ được đưa vào chứng nhận hiệu chuẩn của Thiết bị

4.2.3 Giá trị trung bình của chỉ thị Thiết bị ( $\overline{t_{tn}}$ ) tại điểm nhiệt độ kiểm tra, được tính theo công thức:

$$\overline{t_{tn}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i$$

$t_i$ : là chỉ thị Thiết bị tại điểm nhiệt độ

$n$ : là số lần đọc của thiết bị tại mỗi điểm nhiệt độ kiểm tra

#### 4.2.4 Xác định độ ổn định của Thiết bị ( $\delta t_{od}$ )

Độ ổn định của Thiết bị tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{od} = \pm \frac{1}{2} \max (t_{maxj} - t_{minj})$$

Trong đó:

$\delta t_{od}$ : Độ ổn định của thiết bị tại nhiệt độ kiểm tra

$t_{maxj}; t_{minj}$ : Nhiệt độ cao nhất và thấp nhất của cặp nhiệt điện thứ  $j$  tại điểm nhiệt độ kiểm tra

#### 4.2.5 Xác định độ đồng đều của Thiết bị ( $\delta t_{dd}$ )

Độ đồng đều của Thiết bị tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{dd} = \pm \frac{1}{2} [\max(\overline{t_j}) - \min(\overline{t_j})]$$

Trong đó:

$\delta t_{dd}$ : Độ đồng đều của Thiết bị

$\max(\overline{t_j}); \min(\overline{t_j})$ : Nhiệt độ trung bình lớn nhất và nhỏ nhất trong  $k$  cặp nhiệt điện.

#### 4.2.6 Đánh giá độ không đảm bảo đo

Độ không đảm bảo đo của phép hiệu chuẩn Thiết bị được tính toán từ các sai số ảnh hưởng đến các phép đo nhiệt độ khi hiệu chuẩn, gồm các thành phần trong bảng sau đây:

STT	Nguồn gốc gây ra độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ)	Ký hiệu
<b>I</b>	<b>Tổ hợp chuẩn</b>	<b>U<sub>ch</sub></b>
1	Độ tản mạn của kết quả đo	U <sub>ch1</sub>
2	Chỉ thị nhiệt độ chuẩn (cùng với cặp nhiệt điện)	U <sub>ch2</sub>
<b>II</b>	<b>Thiết bị</b>	<b>U<sub>bk</sub></b>
1	Độ tản mạn của kết quả đo	U <sub>bk1</sub>
2	Độ ổn định	U <sub>bk2</sub>

STT	Nguồn gốc gây ra độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ)	Ký hiệu
3	Độ đồng đều	$u_{bk3}$
4	Độ phân giải	$u_{bk4}$
III	<b>ĐKĐBĐ tổng hợp</b>	<b><math>u_c</math></b>
IV	<b>ĐKĐBĐ mở rộng</b>	<b><math>U_{exp}</math></b>

a) Độ không đảm bảo đo của tổ hợp chuẩn:  $u_{ch}$

Thành phần này được tính toán từ hai thành phần: độ không đảm bảo đo của chỉ thị các cặp nhiệt điện ( $u_{ch1}$ ) tính từ độ tán mạn số đọc của các cặp nhiệt điện tại k vị trí của Thiết bị và độ không đảm bảo đo của tổ hợp chuẩn, gồm các thiết bị đo với các cặp nhiệt điện, loại B ( $u_{ch2}$ ).

$$u_{ch} = \sqrt{u_{ch1}^2 + u_{ch2}^2}$$

- Độ không đảm bảo đo của chỉ thị các cặp nhiệt điện:  $u_{ch1}$

$$u_{ch1} = \sqrt{\sum_{j=1}^k u_{ch1,j}^2}$$

Ở đây  $u_{ch1,j}$  là độ không đảm bảo đo của cặp nhiệt điện thứ j, có công thức:

$$u_{ch1,j} = \sqrt{\frac{S_j^2}{n}}$$

Trong đó:  $S_j$  là độ lệch chuẩn của cặp nhiệt điện thứ j, tính cho n lần đọc, theo công thức:

$$S_j = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (t_{i,j} - \bar{t}_j)^2}{(n-1)}}$$

Trong đó:

$n$ : Số lần đọc tại mỗi điểm,

$t_{i,j}$ : Lần đọc thứ i của cặp nhiệt điện thứ j,

$\bar{t}_j$ : Nhiệt độ trung bình tại điểm kiểm tra của cặp nhiệt điện thứ j.

- Độ không đảm bảo của tổ hợp chuẩn, gồm thiết bị chỉ thị đo với các cặp nhiệt điện:  $u_{ch2}$

$$u_{ch2} = \frac{U_{exp}}{2}$$

Với  $U_{exp}$  là độ không đảm bảo mở rộng của tổ hợp đo với các cặp nhiệt điện (lấy



giá trị của tổ hợp chuẩn có giá trị lớn nhất).

b) Độ không đảm bảo đo của Thiết bị:  $u_{bk}$

Độ không đảm bảo đo chuẩn liên hợp của Thiết bị:

$$u_{bk} = \sqrt{u_{bk1}^2 + u_{bk2}^2 + u_{bk3}^2 + u_{bk4}^2}$$

- Độ không đảm bảo đo tần mạn của Thiết bị chuẩn:  $u_{bk1}$

$$u_{bk1} = \sqrt{\frac{\sum_1^N S_j^2}{n}}$$

Trong đó:  $S_j$  là độ lệch chuẩn tại điểm đo thứ N. n là số lần đọc tại mỗi điểm đo

$$S_j = \sqrt{\frac{\sum_1^n (t_i - \bar{t})^2}{(n-1)}}$$

Trong đó:

$n$ : Số lần đọc tại mỗi điểm,

$t_i$ : Lần đọc thứ i của Thiết bị ,

$\bar{t}$ : Nhiệt độ trung bình tại điểm kiểm tra của Thiết bị .

- Độ không đảm bảo đo tính theo độ ổn định:  $u_{bk2}$

$$u_{bk2} = \frac{\delta t_{od}}{\sqrt{3}}$$

- Độ không đảm bảo đo tính theo độ đồng đều:  $u_{bk3}$

$$u_{bk3} = \frac{\delta t_{dd}}{\sqrt{3}}$$

- Độ không đảm bảo đo theo độ phân giải của chỉ thị Thiết bị:  $u_{bk4}$

Đối với chỉ tương tự:

$$u_{bk4} = \frac{d}{10\sqrt{3}}$$

Đối với chỉ thị hiện số:

$$u_{bk4} = \frac{d}{2\sqrt{3}}$$

Trong đó:  $d$  là độ phân giải chỉ thị của thiết bị .

c) Độ không đảm bảo đo tổng hợp ( $u_c$ ) được tính theo công thức:

$$u_c = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{bk}^2}$$

Trong đó:  $u_{ch}$  là độ không đảm bảo đo của tổ hợp chuẩn

$u_{bk}$  là độ không đảm bảo đo của Thiết bị

d) Độ không đảm bảo đo mở rộng ( $U_{exp.RT-PCR}$ ) được tính theo công thức:

$$U_{exp.RT-PCR} = k \cdot u_C$$

Trong đó:  $k$  là hệ số bao phủ (chọn  $k=2$ , xác suất tin cậy  $P=95\%$ )

• Lưu ý: Thành phần này sẽ được đưa vào chứng nhận hiệu chuẩn của thiết bị.

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

Trả kết quả theo theo biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm
2	Biểu mẫu biên bản hiệu chuẩn Realtime PCR – Thông số nhiệt độ
3	Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

#### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu yêu cầu đo, hiệu chuẩn, thử nghiệm	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn	Bản giấy	5
2	Biểu mẫu biên bản hiệu chuẩn Realtime PCR – Thông số nhiệt độ	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn	Bản giấy	5
3	Giấy chứng nhận hiệu chuẩn	Phòng thí nghiệm hiệu chuẩn, cơ sở sử dụng	Bản giấy	5

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

- Không áp dụng

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không áp dụng

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không áp dụng

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

### **6.1. Nội kiểm chất lượng**

- Không áp dụng

### **6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù**

- So sánh song phương với phòng thí nghiệm cung cấp dịch vụ hiệu chuẩn đã được công nhận

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- TCVN 7699-3-5:2014. Hiệu chuẩn môi trường phần 3-5: Tài liệu hỗ trợ và hướng dẫn – xác nhận tính năng của thiết bị nhiệt độ.

- ASTM D 5374-1993 (Reapproved 2005). Standard test method for forced convection laboratory ovens for evaluation of electrical insulation.

- Estimation method for temperature uncertainty of temperature chambers (JTM K 08), 2008. Espec Technology Report 26, Espec Corp, Japan.

- IEC 60216-4-1: 2006 (E). Electrical insulating materials – Thermal endurance properties. Part 4-1: Ageing ovens – single chamber ovens.

- ISO 9001 (Part 20): 2010/IEC 60068-3-11:2007: Indian standard – Guidance for environmental testing – Part 20: Calculation of uncertainty of conditions in climatic test chambers.

- Thermocycler Calibration Guide -CYCLERtest BV-V311011.

- Thermal Cycler Temperature Verification System For GeneAmp® PCR Systems with a 0.2-mL Sample Block -Applied Biosystems- 08/2006.

- Measurement uncertainty in calibration and compliancy testing of PCR and qPCR thermal cyclers - 18th International Congress of Metrology, 05003 (2017).



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 279:

## HIỆU CHUẨN NHIỆT KẾ THỦY TINH CHẤT LỎNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP SO SÁNH VỚI BỘ CHUẨN NHIỆT ĐỘ

### 1. ĐẠI CƯƠNG

#### 1.1. Mục đích

Quy trình này hướng dẫn hiệu chuẩn các loại nhiệt kế thủy tinh chất lỏng nhúng 1 phần và toàn phần, trong phạm vi đo từ - 30 °C đến 180 °C, giá trị độ chia đến 0,1 °C, nhiệt kế thủy tinh có cơ cấu cực đại có phạm vi đo từ -30°C đến 180 °C giá trị độ chia 0,1 °C, không áp dụng cho các nhiệt kế thủy tinh chất lỏng loại đặc biệt.

#### 1.2. Định nghĩa

##### 1.2.1. Định nghĩa

- Nhiệt kế thủy tinh chất lỏng: Là nhiệt kế đo nhiệt độ trực tiếp, hoạt động dựa trên nguyên lý giãn nở của chất lỏng theo nhiệt độ. Cấu tạo của nhiệt kế gồm có bầu chứa chất lỏng, ống mao quản, bầu chứa phụ, thang chia độ. Thân nhiệt kế làm bằng thủy tinh chịu nhiệt.

- Nhiệt kế thủy tinh chất lỏng nhúng toàn phần: Là nhiệt kế khi hiệu chuẩn hoặc sử dụng phải nhúng nhiệt kế vào môi trường đo đến ngang bằng mức nhiệt độ chỉ thị của nhiệt kế.

- Nhiệt kế thủy tinh chất lỏng nhúng một phần: là nhiệt kế khi hiệu chuẩn hoặc sử dụng phải nhúng nhiệt kế vào môi trường đo đến ngang mức nhúng được quy định trên thân nhiệt kế hoặc cho trong chứng chỉ hiệu chuẩn.

- Cơ cấu cực đại là phần cấu tạo của nhiệt kế giúp cho số chỉ của nhiệt kế giữ ở giá trị nhiệt độ cao nhất sau quá trình đo nhất định và duy trì cho đến khi người sử dụng đặt lại.

- Nhiệt kế phụ là nhiệt kế thủy tinh – thủy ngân dùng để đo nhiệt độ trung bình của cột chất lỏng lộ ra ngoài khi hiệu chuẩn nhiệt kế thủy tinh - chất lỏng nhúng một phần.

- Hệ số giãn nở biểu kiến: Là hệ số giãn nở nhiệt tương đối của thủy ngân, chất lỏng đối với thủy tinh làm nhiệt kế.

- Độ không đảm bảo đo: là thông số gắn liền với kết quả đo, đặc trưng cho sự phân tán của các giá trị có thể quy cho đại lượng đo một cách hợp lý.

##### 1.2.2. Từ viết tắt

- KĐBĐ: Không đảm bảo đo

#### 1.3. Nguyên lý

- So sánh giá trị chỉ thị trên thân nhiệt kế với giá trị chỉ thị nhiệt độ được thể hiện bởi cùng thiết bị đo nhiệt độ chuẩn.

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Hiệu chuẩn: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán và phiên giải kết quả: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Xem xét và phê duyệt: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: Trình độ 12/12 trở lên; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### 2.2. Vật tư

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Dung dịch chuyên dụng (Cồn 70%, nước cất 2 lần, dầu gia nhiệt)

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Cồn 70%.

- Khẩu trang y tế

- Găng tay y tế

- Giấy thấm

- Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

- Văn phòng phẩm: bút, giấy A4, tem hiệu chuẩn

Bảo quản sinh phẩm, hoá chất, vật tư tiêu hao theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Thiết bị kiểm tra nhiệt kế dạng sensor nhiệt độ so sánh.

- Thiết bị kiểm tra nhiệt kế dạng bể chuẩn nhiệt.

- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm môi trường

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Loại mẫu: Nhiệt kế thủy tinh được đặt thẳng đứng trong PTN ít nhất 24 giờ, vệ sinh sạch bên ngoài nhiệt kế.

- Vận hành bể điều nhiệt theo hướng dẫn sử dụng để máy hoạt động ổn định.



- Kiểm tra và vận hành các bộ đo, ghi nhiệt độ chuẩn, đảm bảo các thiết bị này hoạt động ổn định.

#### 2.4.2. Kiểm tra bên ngoài mẫu

- Bầu nhiệt kế phải bóng, nhẵn, không có khuyết tật. Bên trong bầu phải sạch, không có bọt khí, vật lạ và những thiếu sót khác.

- Thân nhiệt kế phải trong suốt, mặt ngoài phải trơn nhẵn, không bị xước, nứt vỡ và không có bọt khí làm ảnh hưởng đến việc đọc số chỉ.

- Ống mao quản phải thẳng, trơn nhẵn, đồng đều cho phép nhìn rõ cột chất lỏng. Cột chất lỏng không bị đứt đoạn, chất lỏng không được bám dính trên ống mao quản.

- Thang đo:

+ Các vạch chia của thang đo phải cách đều nhau và vuông góc với mao quản, các vạch được đánh số phải dài hơn các vạch khác. Đối với nhiệt kế thủy tinh có cơ cấu cực đại thì vạch số 37 °C phải đánh dấu rõ ràng và khác màu so với những số còn lại.

+ Vạch, số phải được khắc hoặc in rõ nét và không thể tẩy xóa được.

+ Bảng thang đo (với nhiệt kế có chứa bảng thang đo) phải được gắn chắc vào thân nhiệt kế và được giữ cố định với mao quản sao cho thang đo và mao quản không được xô dịch tương đối với nhau.

+ Trên thân của nhiệt kế cần hiệu chuẩn thân đặc hoặc trên bảng thang đo của nhiệt kế phải có các chữ, ký hiệu, nhãn hiệu sau đây:

+ Ký hiệu chia độ: °C.

+ Tên hoặc nhãn hiệu của nhà sản xuất, số sản xuất.

+ Mức nhúng đối với nhiệt kế thủy tinh chất lỏng nhúng một phần. Xác định chuẩn sử dụng

#### 2.4.3. Kiểm tra kỹ thuật

- Đối với nhiệt kế thủy tinh, thủy ngân có cơ cấu cực đại:

+ Sai lệch số chỉ của cột chất lỏng khi đặt nhiệt kế bị kiểm theo phương thẳng đứng và nằm ngang không vượt quá 0,1 °C.

- Kiểm tra cơ cấu cực đại

+ Kiểm tra chốt giữ thủy ngân: Đặt nhiệt kế lên bàn theo phương nằm ngang trên tờ giấy trắng, tiến hành làm nóng bầu thủy ngân bằng khăn nóng (50 ± 10) °C, sau đó làm lạnh bầu nhiệt kế bằng khăn lạnh (10 ± 10) °C. Dùng kính lúp quan sát, chốt giữ thủy ngân không được bám dính thủy ngân tại đó.

+ Đưa cột thủy ngân của nhiệt kế bị kiểm về nhiệt độ môi trường bằng cách dùng tay vẩy hoặc dùng máy ly tâm.

+ Đặt bầu nhiệt kế bị kiểm vào bình điều nhiệt có nhiệt độ cao hơn nhiệt độ môi trường không khí 10 °C, sau 10 phút đọc số chỉ của nhiệt kế. Lấy nhiệt kế ra khỏi bình điều nhiệt, đặt theo phương thẳng đứng.

+ Sau 1 giờ, đọc lại số chỉ của nhiệt kế, số chỉ không được thay đổi quá 0,1 °C.



- Nhiệt kế bị kiểm không đáp ứng một trong các yêu cầu của kiểm tra kỹ thuật, bị loại bỏ, không kiểm tra tiếp.

### **2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn**

Không áp dụng.

### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Tổng thời gian thực hiện là 05 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

- Tại phòng Hiệu chuẩn có các yêu cầu về điều kiện như sau:

+ Nhiệt độ môi trường từ 18 °C đến 28 °C.

+ Độ ẩm môi trường (độ ẩm không khí trong phòng hiệu chuẩn) không quá 70%.

## **3. AN TOÀN**

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## **4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **4.1. Các bước thực hiện**

#### **4.4.1. Quy định chung**

- Kiểm tra đo lường nhiệt kế cần hiệu chuẩn được thực hiện bằng phương pháp so sánh. Số chỉ của nhiệt kế cần hiệu chuẩn được so sánh với giá trị nhiệt độ “thực” được thể hiện bằng chuẩn nhiệt độ.

- Số điểm nhiệt độ kiểm tra là 3 điểm trên toàn dãy. Các điểm nhiệt độ kiểm tra phải cách đều nhau. Khoảng cách giữa hai điểm nhiệt độ liền kề không được lớn hơn 100 giá trị độ chia nhỏ nhất của nhiệt kế. Ngoài ra, số điểm cần hiệu chuẩn của nhiệt kế còn tùy thuộc vào yêu cầu của người sử dụng.

- Các nhiệt kế cần hiệu chuẩn phải đặt thẳng đứng trong phòng thí nghiệm ít nhất 24 giờ trước khi kiểm tra đo lường.

- Trình tự kiểm tra thủy tinh nhúng 1 phần và toàn phần tại các điểm như sau:

- Với các nhiệt kế có điểm 0 °C:

+ Kiểm tra tại điểm 0 °C.

+ Lần lượt thực hiện kiểm tra tại các điểm nhiệt độ cao nhất đến điểm nhiệt độ thấp nhất (với dải nhiệt độ âm) và từ các điểm nhiệt độ thấp nhất đến điểm nhiệt độ cao nhất (với dải nhiệt độ dương).

+ Kiểm tra tại điểm 0 °C lần 2.

- Với các nhiệt kế không có điểm 0 °C:

+ Lần lượt thực hiện kiểm tra tại các điểm nhiệt độ thấp nhất đến điểm nhiệt độ cao nhất, bao gồm điểm vạch giữa thang chia.

+ Kiểm tra lại điểm giữa của thang chia lần 2.

- Khi tiến hành kiểm tra điểm 0 °C hoặc điểm giữa thang đo lần 2

- Sau khi đã giữ nhiệt kế ở nhiệt độ phòng 3 ngày đối với nhiệt kế dùng làm chuẩn. Ngay sau khi hiệu chuẩn đối với nhiệt kế công nghiệp.

- Khi nhúng nhiệt kế cần hiệu chuẩn vào trong bể nhiệt phải tuân theo quy định sau:

+ Các nhiệt kế phải ở vị trí thẳng đứng.

+ Nhiệt kế nhúng một phần phải nhúng sâu đến mức quy định. Nhiệt kế nhúng toàn phần phải được nhúng đến vạch kiểm tra, cho phép nhô lên trên mặt thoáng không quá 3 vạch chia.

- Các nhiệt kế không được tiếp xúc với nhau hoặc tiếp xúc với thành bể nhiệt.

- Nhiệt kế phụ đặt sát nhiệt kế cần hiệu chuẩn (ngâm ngập 1 phần), điểm giữa bầu nhiệt kế phụ ngang bằng với mức chỉ thị của nhiệt kế cần hiệu chuẩn sau khi ổn định.

- Trình tự đọc số chỉ theo quy định dưới đây:

+ Nhiệt kế chuẩn -> N1 ->N2 ->N3 ..... ->NN ->Nhiệt kế chuẩn.

*Trong đó:* N1, N2, N3...NN là nhiệt kế cần hiệu chuẩn. Quá trình đọc số chỉ từ nhiệt kế chuẩn đến nhiệt kế Nn trở về đến nhiệt kế chuẩn là một lượt đọc. Số lượt đọc tại mỗi điểm kiểm tra là 10 lượt. Thời gian giữa mỗi lượt tối thiểu là 60 giây. Nếu sai số 2 lần đọc nhiệt kế chuẩn không nằm trong độ chính xác cho phép của bể nhiệt, nhiệt độ của bể nhiệt chưa ổn định, chờ đến khi nhiệt độ của bể nhiệt ổn định (chỉ số nhiệt kế chuẩn nằm trong sai số cho phép của bể nhiệt), lặp lại việc đọc chỉ số và ghi lại nhiệt độ của các nhiệt kế chuẩn và nhiệt kế cần hiệu chuẩn.

- Khi đọc số chỉ của nhiệt kế phải điều chỉnh hệ thống đọc bằng kính phóng đại sao cho nhìn rõ vạch chia và cột chất lỏng, đường ngắm phải vuông góc với cột chất lỏng và ngang bằng với mặt thoáng của cột chất lỏng.

- Đối với nhiệt kế thủy tinh có cơ cấu cực đại:

+ Vẫy bằng tay cho cột thủy ngân của nhiệt kế bị kiểm hạ thấp hơn nhiệt độ cần kiểm tra ít nhất 3 °C.

+ Sau khi nhiệt độ nguồn nhiệt ổn định trở lại, ghi số chỉ của nhiệt kế chuẩn và lấy nhiệt kế ra khỏi nguồn nhiệt, 15 phút sau tiến hành đọc nhiệt kế bị kiểm theo như trên.

#### 4.1.2. Tiến hành kiểm tra

- Kiểm tra điểm 0 °C hoặc điểm có đánh dấu giữa thang đo:

+ Nhúng nhiệt kế thủy tinh chất lỏng cần hiệu chuẩn và nhiệt kế chuẩn vào bể điều nhiệt đã cài đặt ở 0°C hoặc nhiệt độ tại điểm đánh dấu giữa thang đo.

+ Tiến hành đọc và ghi số chỉ của các nhiệt kế 3 lần khi nhiệt độ đã ổn định.

- Kiểm tra các điểm trên 0 °C (hoặc dưới 0 °C)

+ Đặt nhiệt độ của bể nhiệt tương ứng điểm kiểm tra thấp nhất (hoặc cao nhất).

- Khi nhiệt độ đã ổn định đọc và ghi số chỉ của các nhiệt kế 5 lần theo trình tự như mục 4.1 ở trên.



- Lần lượt đặt nhiệt độ của bề điều nhiệt tương ứng với điểm kiểm tra tiếp theo cho đến điểm kiểm tra cuối cùng. Trình tự và cách đo lặp lại như mục trên.

- Sau khi hiệu chuẩn xong điểm kiểm tra cuối cùng, đo lại giá trị của nhiệt kế cần hiệu chuẩn tại điểm 0°C hoặc điểm có đánh số ở giữa khoảng thang đo lần 2.

- Khi kiểm tra xong, tất cả các nhiệt kế được lấy ra khỏi bề nhiệt và đặt trong phòng thí nghiệm ở vị trí thẳng đứng theo chiều làm việc.

- Sau khi hiệu chuẩn thì chuyển sang bước tính toán và cấp giấy chứng nhận hiệu chuẩn trên máy tính.

#### 4.1.3. Tính toán độ KĐBĐ

a) *Tính số hiệu chỉnh phần cột chất lỏng lộ ra ngoài theo công thức:*

$$\Delta t_{bk} = k_{bk} n (t_{1tb} - t_{2tb}) d$$

- Trong đó:

+  $\Delta t_{bk}$ : số hiệu chỉnh phần cột chất lỏng lộ ra ngoài.

+  $k_{bk}$ : hệ số nở biểu kiến của chất lỏng so với thủy tinh (xem ở phụ lục).

+  $n$ : số độ chia tương ứng với chiều dài phần cột chất lỏng lộ ra ngoài được tính từ mặt nhúng (emersion line) đến mặt đáy cong của chất lỏng bên trong thân nhiệt kế, đối với nhiệt kế có một đoạn lộ ra ngoài không được chia vạch, xác định bằng cách đo độ dài khoảng không chia vạch này rồi so sánh với đoạn chia vạch phía trên.

+  $t_{1tb}$ : nhiệt độ trung bình của cột chất lỏng lộ ra ngoài ghi trên thân nhiệt kế hoặc cho trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn đối với nhiệt kế nhúng 1 phần hoặc số đọc của nhiệt kế đối với nhiệt kế nhúng toàn phần.

+  $t_{2tb}$ : nhiệt độ trung bình của cột chất lỏng lộ ra ngoài đo được bằng nhiệt kế phụ trong quá trình hiệu chuẩn.

+  $d$ : độ phân giải nhiệt kế cần hiệu chuẩn.

- Nếu không thể xác định được  $t_{1tb}$ , ta có thể dùng công thức sau:

$$\Delta t_{bk} = k_{bk} n (25 - t_{2tb}) d$$

b) *Xác định số hiệu chỉnh tại các điểm hiệu chuẩn*

- Số hiệu chỉnh của nhiệt kế thủy tinh chất lỏng tại mỗi điểm kiểm tra được tính theo công thức:

$$\Delta t = (\overline{t_{ch}} + \delta t_{ch}) - (\overline{t_{bk}} + \Delta t_{bk})$$

- Trong đó:

+  $t_{ch}$ : Nhiệt độ trung bình của nhiệt kế chuẩn tại mỗi điểm kiểm tra.

+  $\square t_{ch}$ : là số hiệu chỉnh của nhiệt kế chuẩn cho trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn.

+  $t_{bk}$ : Số đọc trung bình của nhiệt kế cần hiệu chuẩn tại mỗi điểm kiểm tra.

+  $\Delta t_{bk}$ : số hiệu chỉnh phần cột chất lỏng lộ ra ngoài cho số đọc của nhiệt kế cần hiệu chuẩn.

c) *Xác định độ hồi trễ của nhiệt kế:*



- Độ hồi trễ của nhiệt kế là hiệu số giữa số đọc nhiệt kế tại điểm 0 °C hoặc điểm đánh dấu giữa thang đo của 2 lần đo theo mục 4.2.

d) *Ước lượng độ KĐBĐ*

- Độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ) của phép hiệu chuẩn nhiệt kế thủy tinh chất lỏng được tính toán từ các sai số ảnh hưởng đến các phép đo nhiệt độ khi hiệu chuẩn, được chia thành hai loại: độ không đảm bảo đo của thiết bị chuẩn và độ không đảm bảo đo của nhiệt kế cần hiệu chuẩn.

- ĐKĐBĐ được tính cho toàn dải đo với mức tin cậy  $P = 95\%$  và hệ số phủ  $k=2$ .

- Độ không đảm bảo đo của thiết bị chuẩn  $u_{ch}$

+  $u_{ch1}$ : được lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn của nhiệt kế chuẩn, tính từ độ không đảm bảo đo mở rộng:  $U_{ch1}$  (theo mức độ tin cậy chất lượng  $P = 95\%$  và hệ số phủ  $k = 2$ ) được cho trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn, được tính theo công thức:

$$u_{ch1} = \frac{U_{ch1max}}{2}$$

+  $U_{ch1max}$ : giá trị lớn nhất trong dãy đo của nhiệt kế chuẩn tương ứng với dãy hiệu chuẩn của nhiệt kế.

+  $u_{ch2}$ : được lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn của thiết bị chỉ thị chuẩn, tính từ độ không đảm bảo đo mở rộng:  $U_{ch2}$  (theo mức độ tin cậy chất lượng  $P = 95\%$  và hệ số phủ  $k = 2$ ) được cho trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn, được tính theo công thức:

$$u_{ch2} = \frac{U_{ch2max}}{2}$$

+  $U_{ch2max}$ : giá trị lớn nhất trong dãy đo của thiết bị chỉ thị chuẩn tương ứng với dãy hiệu chuẩn của nhiệt kế.

+  $U_{ch2}$  được tính như sau:

+ Xác định sai số tổng điện trở của bộ chỉ thị tại điểm nhiệt:

+  $E_t = |E| + U/2$ , với  $U$  là Độ KĐBĐ và  $E$  là sai số điện trở được cho trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn.

-  $U_{ch2} = E_t/0.4$

+  $u_{ch3}$ : Độ không đảm bảo đo do độ tàn mạn kết quả đo của nhiệt kế chuẩn

$$u_{ch3} = \frac{s_{cm}}{\sqrt{n}}$$

Với:  $n$  là số lần lấy dữ liệu tại mỗi điểm kiểm tra.

$s_{cm}$  là độ lệch chuẩn tích lũy từ các độ lệch chuẩn và được xác định theo công thức:

$$s_{cm} = \sqrt{\frac{1}{m} \sum_{j=1}^m s_{cj}^2}$$

+  $m$ : số điểm nhiệt hiệu chuẩn của nhiệt kế.

+  $s_{cj}$ : độ lệch chuẩn tại mỗi điểm kiểm tra được tính theo công thức:

$$s_e = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (t_i - \bar{t})^2}{n-1}}$$

$n$  là số lần lấy dữ liệu tại mỗi điểm kiểm tra.

$t_i$ : giá trị nhiệt độ chuẩn mỗi lần đo tại điểm nhiệt độ hiệu chuẩn.

$\bar{t}$ : giá trị nhiệt độ chuẩn trung bình tại điểm nhiệt độ hiệu chuẩn

+  $u_{ch4}$ : Độ không đảm bảo đo do nguồn nhiệt chuẩn:

$$u_{ch4-i} = \sqrt{\frac{\delta_{od-i}^2 + \delta_{dd-i}^2}{3}}$$

Trong đó  $\delta_{od-i}$ : độ ổn định của nguồn nhiệt chuẩn tại điểm đo  $i$ .

$\delta_{dd-i}$ : độ đồng đều của bể điều nhiệt (hoặc độ đồng đều dọc trục của lò nhiệt chuẩn) tại điểm đo  $i$ .

$$u_{ch4} = \max(u_{ch4-i})$$

+ Độ không đảm bảo đo chuẩn liên hợp của thiết bị chuẩn:

$$u_{ch} = \sqrt{u_{ch1}^2 + u_{ch2}^2 + u_{ch3}^2 + u_{ch4}^2}$$

- Độ không đảm bảo đo của nhiệt kế cần hiệu chuẩn  $u_{bk}$ :

+  $u_{bk1}$ : Độ không đảm bảo đo do độ tản mạn của kết quả đo:

$$u_{bk1} = \frac{s_{bk}}{\sqrt{n}}$$

Với  $s_{bk}$  là độ lệch chuẩn tích lũy của nhiệt kế cần hiệu chuẩn và được xác định theo công thức:

$$s_{bk} = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^m s_{kj}^2}{m}}$$

Trong đó:  $s_{kj}$ : độ lệch chuẩn tại mỗi điểm hiệu chuẩn nhiệt độ của nhiệt kế hiệu chuẩn.

$m$ : Số điểm hiệu chuẩn trên dãy đo.

$$s_k = \sqrt{\frac{\sum (t_{bki} - \bar{t}_{bk})^2}{n-1}}$$

Trong đó:  $n$ : số lần lấy dữ liệu tại mỗi điểm kiểm tra.

$t_{bki}$ : Lần đọc thứ  $i$  của nhiệt kế thủy tinh - chất lỏng cần hiệu chuẩn tại điểm nhiệt độ hiệu chuẩn.

$\bar{t}_{bk}$ : Nhiệt độ trung bình tại điểm kiểm tra của nhiệt kế thủy tinh - chất lỏng cần hiệu chuẩn tại điểm nhiệt độ hiệu chuẩn.

+  $u_{bk2}$ : Độ không đảm bảo đo do độ hồi sai của nhiệt kế:

$$u_{bk2} = \frac{\Delta T_{hs}}{2\sqrt{3}}$$

$\Delta T_{hs}$ : Sai lệch nhiệt độ tại điểm 0 (hoặc điểm đánh dấu giữa thang đo) trước và sau khi hiệu chuẩn của nhiệt kế cần hiệu chuẩn được tính như sau

$$\Delta T_{hs} = T_{ch2} - T_{bk2} - (T_{ch1} - T_{bk1})$$

+  $u_{bk3}$ : Độ không đảm bảo đo tính theo giá trị độ chia nhỏ nhất của nhiệt kế cần hiệu chuẩn: thành phần này tính theo khả năng đọc điểm kiểm tra của nhiệt kế cần hiệu chuẩn qua thiết bị quang học:

$$u_{bk3} = \frac{Axd}{2\sqrt{3}}$$

Tong đó:  $d$  giá trị độ chia nhỏ nhất của nhiệt kế cần hiệu chuẩn.

$A$ : khả năng phân biệt giá trị độ chia nhỏ nhất (=khả năng đọc/độ phân giải).

+  $u_{bk4}$ : Độ không đảm bảo của việc xác định số hiệu chính của cột chất lỏng lộ ra ngoài:

$$u_{bk4} = k_{bk} n u_p d$$

Trong đó:  $k_{bk}$ : hệ số giãn nở biểu kiến của nhiệt kế thủy tinh.

$n$ : số độ chia tương ứng với chiều dài phần cột chất lỏng lộ ra ngoài.

$u_p$ : độ không đảm bảo đo của nhiệt kế phụ đo nhiệt độ phần cột chất lỏng lộ ra ngoài.

$d$ : độ phân giải của nhiệt kế cần hiệu chuẩn.

+ Độ không đảm bảo đo chuẩn liên hợp của nhiệt kế cần hiệu chuẩn:

$$u_{bk} = \sqrt{u_{bk1}^2 + u_{bk2}^2 + u_{bk3}^2 + u_{bk4}^2}$$

- Độ không đảm bảo đo liên hợp của kết quả hiệu chuẩn

$$u_{hc} = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{bk}^2}$$

- Độ không đảm bảo đo mở rộng

$$U = 2 \times u_{hc}$$

#### 4.1.4 Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được vệ sinh sạch và đặt dựng đứng trong khi chờ bàn giao lại thiết bị cho khách hàng.

#### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

#### 4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả



- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

#### 4.3.2 Phụ lục và biểu mẫu

Không áp dụng

#### 4.3.3 Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm).

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Bề điều nhiệt không ổn định, không đạt giá trị cài đặt, dùng hiệu chuẩn báo cấp trên xử lý.
- Lắp đặt nhiệt kế không đúng yêu cầu kỹ thuật không được tiến hành hiệu chuẩn.
- Góc quan sát nhiệt kế phải vuông góc thân nhiệt kế.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả
- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm

Không áp dụng.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- ĐLVN 303:2016 – Nhiệt kế thủy tinh- thủy ngân chuẩn- Quy trình hiệu chuẩn
- ĐLVN 137:2004 – Nhiệt kế thủy tinh chất lỏng - Quy trình hiệu chuẩn.
- ĐLVN 159:2017- Nhiệt kế thủy tinh – thủy ngân có cơ cấu cực đại- Quy trình

kiểm định.

- NIST Special Publication 819 - A procedure for the effective recalibration of Liquid-in-glass thermometer.

- NIST Special Publication 250-23 - Liquid-In-Glass Thermometer Calibration Service.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 280:

## QUY TRÌNH HIỆU CHUẨN MÁY ĐO PH BẰNG PHƯƠNG PHÁP SO SÁNH VỚI DUNG DỊCH PH CHUẨN

### 1. ĐẠI CƯƠNG

#### 1.1. Mục đích

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện, điều kiện hiệu chuẩn, trình tự, tính toán xử lý kết quả hiệu chuẩn phương tiện đo pH có phạm vi đo ( $0 \div 14$ ) có giá trị độ chia 0,1 pH; 0,01 pH nhằm đảm bảo việc hiệu chuẩn luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

#### 1.2. Định nghĩa

##### 1.2.1. Định nghĩa

- Dung dịch chuẩn pH được chứng nhận: là loại chất chuẩn thể lỏng có độ pH xác định và được cơ quan có thẩm quyền chứng nhận.

- Đơn vị đo:  $\text{pH} = -\log_{10}a_{\text{H}^+}$

##### 1.2.2. Từ viết tắt

- KĐBĐ: Không đảm bảo đo

#### 1.3. Nguyên lý

Nguyên lý của việc hiệu chuẩn máy đo pH là so sánh chỉ thị của máy đo pH khi nhúng đầu đo của máy vào dung dịch chuẩn với giá trị pH được chứng nhận của dung dịch chuẩn đó tại nhiệt độ xác định.

### 2. CHUẨN BỊ

#### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Hiệu chuẩn: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán và phiên giải kết quả: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Xem xét và phê duyệt: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: Trình độ 12/12 trở lên; được đào tạo về quy trình chuyên môn.



## 2.2. Vật tư

### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Còn 70%.

- Nước cất 2 lần.

- Dung dịch chuẩn pH có giá trị danh định 4,00; 7,00; 10,00 pH và có giấy chứng nhận kèm theo, có độ không đảm bảo đo không lớn hơn 1/3 sai số cho phép.

- Dung dịch rửa điện cực và dung dịch đệm điện cực (nếu cần).

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Khẩu trang y tế.

- Găng tay y tế

- Giấy thấm.

- Bình tia

- Giấy chứng nhận hiệu chuẩn

- Văn phòng phẩm: bút, giấy A4, tem hiệu chuẩn.

Bảo quản sinh phẩm, hoá chất, vật tư tiêu hao theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

## 2.3. Thiết bị

- Bể điều nhiệt.

- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm môi trường hoặc tương đương.

- Thiết bị đo nhiệt độ dung dịch pH

## 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Loại mẫu: máy đo pH có dải đo phù hợp dung dịch pH chuẩn cần sử dụng để hiệu chuẩn.

- Vận hành bể điều nhiệt theo hướng dẫn sử dụng để máy hoạt động ổn định.

- Lọ đựng dung dịch chuẩn pH phải được rửa sạch và sấy khô.

- Dung dịch chuẩn được chiết ra lọ và đặt vào bể điều nhiệt để ổn định nhiệt độ tại 25 °C.

### 2.4.2. Kiểm tra bên ngoài mẫu

- Kiểm tra bằng mắt để xác định sự phù hợp của phương tiện đo pH với các yêu cầu quy định trong tài liệu kỹ thuật về hình dáng, kích thước, hiển thị, nguồn điện sử dụng, nhãn hiệu và phụ kiện kèm theo.

- Kiểm tra các thông tin như: hãng sản xuất, kiểu, số seri, số nhận dạng của thiết bị.

### 2.4.3. Kiểm tra kỹ thuật

- Kiểm tra trạng thái hoạt động bình thường và cơ cấu chính của phương tiện đo theo tài liệu kỹ thuật.

- Kiểm tra đầu điện cực, dung dịch đệm điện cực và chỉ thị của phương tiện đo.

- Kiểm tra các đặc trưng kỹ thuật của thiết bị:

+ Thang đo pH, thang nhiệt độ, thang đo mV

+ Độ phân giải pH, độ phân giải nhiệt độ và độ phân giải mV.

## 2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn

Không áp dụng.

## 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện là 05 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc)

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại phòng Hiệu chuẩn có các yêu cầu về điều kiện như sau:

+ Nhiệt độ môi trường từ 20 °C đến 30 °C.

+ Độ ẩm môi trường (độ ẩm không khí trong phòng hiệu chuẩn) không quá 80%

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Kiểm tra độ lặp lại và sai số

- Trước khi bắt đầu và sau khi hiệu chuẩn, ghi lại chỉ số nhiệt độ và độ ẩm.

- Kiểm tra sai số sau mỗi lần hiệu chuẩn cho 3 điểm pH là 4,00; 7,00 và 10,00 pH.

- Các bước tiến hành:

*a. Bước 1:* Tiến hành hiệu chuẩn cho 3 điểm pH theo hướng dẫn sau (có thể tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất phương tiện đo pH):

+ (1) Bật máy đo pH.

+ (2) Rửa điện cực bằng nước cất, lau khô điện cực bằng giấy thấm.

+ (3) Lắc nhẹ dung dịch 4,00 pH sau đó nhúng điện cực vào.

+ (4) Vào chế độ Calibration trên máy đo pH, đợi cho quá trình đo ổn định, thực hiện theo hướng dẫn nhà sản xuất.

+ (5) Lấy điện cực ra khỏi dung dịch chuẩn, rửa và lau khô điện cực bằng giấy thấm.

+ Tiếp tục thực hiện cho dung dịch chuẩn 7,00 và 10,00 pH theo các bước (3), (4), (5).

b. *Bước 2*: kiểm tra sai số sau hiệu chuẩn cho 3 điểm pH là 4,00; 7,00 và 10,00 pH.

+ Tại mỗi điểm kiểm tra, đầu đo của phương tiện đo phải được tráng bằng nước cất tối thiểu 3 lần.

+ Tiến hành đo giá trị pH cho từng dung dịch chuẩn 4,00; 7,00; 10,00 pH, mỗi dung dịch chuẩn đo 5 lần liên tiếp.

+ Ghi chỉ số pH của phương tiện đo cho mỗi lần đo đối với một điểm dung dịch chuẩn: giá trị  $C_{ji}$  (pH) với  $i = 1,2,3,4,5$  và  $j = 4,00; 7,00; 10,00$  pH.

#### 4.1.2 Kiểm tra độ ổn định

Chọn dung dịch chuẩn bất kỳ

- Đo 03 lần dung dịch chuẩn đã chọn, mỗi lần đo cách nhau 15 phút (lần đo thứ hai cách lần đo thứ nhất 15 phút, lần đo thứ ba cách lần đo thứ nhất 30 phút).

- Ghi chỉ số pH của phương tiện đo cho mỗi lần đo Y1, Y2, Y3

#### 4.1.3 Kiểm tra hiệu suất điện cực (nếu có)

Bật mV mode

- Nhúng điện cực vào dung dịch chuẩn 7,00 pH. Ghi kết quả V1 (mV).

- Rửa điện cực bằng nước cất 3 lần bằng nước cất.

- Nhúng điện cực vào dung dịch chuẩn 4,00 pH. Ghi kết quả V2 (mV).

- Rửa điện cực bằng nước cất 3 lần bằng nước cất.

- Nhúng điện cực vào dung dịch chuẩn 10,00 pH. Ghi kết quả V3 (mV).

#### 4.1.4 Tính toán kết quả

a) *Kiểm tra sai số sau mỗi lần hiệu chuẩn.*

- Tính sai số của phép đo cho mỗi dung dịch chuẩn được tính theo công thức:

$$\Delta = C_{ji} - C_{ch} \quad (1)$$

Trong đó:

+  $\Delta$ : sai số, pH

+  $C_{ji}$ : giá trị pH đọc cho mỗi lần đo của phương tiện đo đối với mỗi dung dịch chuẩn

+  $C_{ch}$ : giá trị pH được chứng nhận của dung dịch chuẩn, pH

Sai số  $\Delta$  không được lớn hơn sai số cho phép được ghi trong phụ lục 1.

- Tính độ lệch chuẩn tại mỗi điểm pH kiểm tra:

$$S_{rep} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^5 (C_{ji} - C_{tb})^2}{4}} \quad (2)$$



$$C_{tb} = \frac{\sum_{j=1}^5 C_{ji}}{5} \quad (3)$$

b) *Kiểm tra độ ổn định*

$$E_1 = Y_2 - Y_1 \quad (4)$$

$$E_2 = Y_3 - Y_1 \quad (5)$$

Sai lệch  $E_1$  và  $E_2$  (giữa các kết quả đo so với phép đo đầu tiên) không được lớn hơn sai số cho phép được ghi trong phụ lục 1.

c) *Kiểm tra hiệu suất điện cực*

- Hiệu suất điện cực ở phạm vi  $4 \div 7$ :

$$S\% = \frac{|V_1| + |V_2|}{59,2 \times 3} \times 100 \quad (6)$$

Với:

S%: hiệu suất điện cực

59,2 mV/pH: giá trị lý thuyết của phương trình Nernst cho một đơn vị pH tại 25°C.

3: sự thay đổi 3 đơn vị pH ( $4 \div 7$ )

$V_1$  và  $V_2$ : tính toán trên giá trị tuyệt đối

- Hiệu suất điện cực ở phạm vi  $7 \div 10$ :

$$S\% = \frac{|V_1| + |V_3|}{59,2 \times 3} \times 100 \quad (7)$$

Với:

S%: hiệu suất điện cực

59,2 mV/pH: giá trị lý thuyết của phương trình Nernst cho một đơn vị pH tại 25°C.

3: sự thay đổi 3 đơn vị pH ( $7 \div 10$ )

$V_1$  và  $V_3$ : tính toán trên giá trị tuyệt đối

Đánh giá:

Giá trị  $V_1$  phải nằm trong khoảng  $0 \pm 30$  (mV)

Giá trị  $V_2$ ,  $V_3$  tối thiểu phải là  $\pm 150$  (mV)

Hiệu suất điện cực nằm trong khoảng 92% - 102%.

4.1.4. Ước lượng độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ) tại từng mức kiểm tra

Các thành phần tham gia vào ĐKĐBĐ

- Độ không đảm bảo đo của dung dịch chuẩn:  $U(bs)$

$$U(bs) = \frac{B}{2} \quad (9)$$

Với: B là độ không đảm bảo đo mở rộng của dung dịch chuẩn (đi kèm trong giấy chứng nhận do nhà sản xuất cung cấp) với hệ số phủ  $k = 2$ .

- Độ không đảm bảo đo do nhiệt độ ảnh hưởng lên dung dịch chuẩn:  $U(bt)$

$$U(bt) = \frac{0,05 \times C}{\sqrt{3}} \quad (10)$$

Với:

+ 0.05: là biến đổi nhiệt độ cho phép đối với dung dịch chuẩn

+ C: là hệ số nhiệt độ biểu hiện cho sự thay đổi giá trị pH trên một độ C

$$C = \left( \frac{pH_1 - pH_2}{5} \right) \quad (11)$$

Trong đó:  $pH_1$  là giá trị pH ở nhiệt độ  $25^{\circ}C$

$pH_2$  là giá trị pH ở nhiệt độ  $20^{\circ}C$

5 là khoảng cách từ  $20^{\circ}C$  đến  $25^{\circ}C$

Giá trị  $pH_1$  và  $pH_2$  do nhà sản xuất dung dịch chuẩn cung cấp

+ Phân bố hình chữ nhật

- Độ không đảm bảo đo do độ phân giải của phương tiện đo pH:  $U(d)$

$$U(d) = \frac{d}{2\sqrt{3}} \quad (12)$$

Với:

d: là độ phân giải của phương tiện đo pH

Phân bố hình chữ nhật

- Độ không đảm bảo đo của độ lặp lại  $U(R)$ .

$$U(R) = S_{rep}$$

Với:

$S_{rep}$  là độ lệch chuẩn của độ lặp lại tại mỗi điểm pH chuẩn và được tính theo công thức (2)

+ Phân bố chuẩn

#### 4.1.5 Khử nhiễm và xử lý mẫu

Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được vệ sinh sạch sẽ.

### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

### 4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

#### 4.3.1 Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Phụ lục 1: Sai số cho phép của giá trị đo pH

TT	Giá trị độ chia (pH)	Sai số cho phép (pH)
1	0,1	0,2
2	0,01	0,05
3	0,001	0,05

Phụ lục 2: Hướng dẫn sử dụng dung dịch chuẩn pH

- Sử dụng dung dịch mới cho mỗi lần hiệu chuẩn. Luôn sử dụng dung dịch chuẩn còn hạn sử dụng. Dung dịch chuẩn được lưu giữ ở nhiệt độ phòng, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng.

- Khi mở lần đầu tiên chai dung dịch chuẩn mới phải ghi ngày tháng mở chai. Nắp chai đựng dung dịch chuẩn phải luôn được đậy chặt và kín. Tránh làm nhiễm dung dịch chuẩn.

- Dung dịch chuẩn được rót ra lọ để thực hiện phép đo phải được sử dụng ngay và chỉ sử dụng một lần.

- Trong quá trình hiệu chuẩn, sử dụng dung dịch chuẩn theo thứ tự trình tự (từ dung dịch pH 4,00 đến 7,00 và 10,00 hoặc ngược lại).

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm).

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật



- Bể điều nhiệt không ổn định, không đạt giá trị cài đặt, dùng hiệu chuẩn báo cấp trên xử lý.

- Không rửa lại kỹ và lau khô đầu đo sau mỗi lần nhúng vào dung dịch chuẩn làm nhiễm chéo dung dịch chuẩn dẫn đến sai kết quả đo.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm

Không áp dụng.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- ĐLVN 21: 2017. Phương tiện đo pH – Quy trình kiểm định.

- Tài liệu đào tạo hiệu chuẩn máy đo pH của FDA (Philippines).

- Calibration handbook of measuring instruments (2017). International society of automation (ISA). ISBN: 978-1-945541-57-5.

- JCGM 100: 2008 (2008). Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement.

- METTLER TOLEDO. A guide to pH measurement – the theory and practice of laboratory pH applications. Printed in Switzerland 51300047.

*Handwritten signatures in blue ink.*

## Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 281:

# QUY TRÌNH HIỆU CHUẨN HIỆU CHUẨN MÁY QUANG PHỔ TỬ NGOẠI KHẢ KIẾN (UV-VIS) BẰNG PHƯƠNG PHÁP SO SÁNH VỚI KÍNH LỘC UV-VIS CHUẨN

## 1. ĐẠI CƯƠNG

### 1.1. Mục đích

Quy trình này hướng dẫn hiệu chuẩn máy quang phổ tử ngoại khả kiến (UV-VIS) có dải bước sóng (190-1100) nm và độ hấp thụ đến 1,6 AU.

### 1.2. Định nghĩa

#### 1.2.1. Định nghĩa

- Máy quang phổ tử ngoại khả kiến UV-Vis: là thiết bị thích hợp dùng cho việc đo phổ vùng tử ngoại và khả kiến bao gồm một hệ thống quang học có khả năng cung cấp ánh sáng đơn sắc trong vùng từ 200 đến 1100 nm và một thiết bị phù hợp để đo độ hấp thụ.

- Bước sóng ( $\lambda$ ): khoảng cách giữa hai điểm cực đại hoặc cực tiểu liên tiếp của sóng.

- Độ hấp thụ (AU): là thước đo khả năng của một chất hoặc một dung dịch hấp thụ bức xạ điện từ hoặc ánh sáng ở bước sóng cụ thể, được tính bằng Logarit thập phân nghịch đảo của độ truyền qua T khi cho ánh sáng đơn sắc hoặc bức xạ điện từ đi qua ( $A = \lg(1/T)$ ).

- Vùng tử ngoại: vùng ánh sáng có bước sóng từ 185 – 400 nm.

- Vùng khả kiến: vùng ánh sáng có bước sóng từ 400 – 760 nm.

- Độ không đảm bảo đo: là thông số gắn liền với kết quả đo, đặc trưng cho sự phân tán của các giá trị có thể quy cho đại lượng đo một cách hợp lý.

#### 1.2.2. Từ viết tắt

KĐBĐ: Không đảm bảo đo

### 1.3. Nguyên lý

So sánh giá trị chỉ thị độ hấp thụ của máy quang phổ khả kiến và giá trị bước sóng mà tại đó độ hấp thụ đạt giá trị cực đại với giá trị chuẩn của kính chuẩn độ hấp thụ và kính chuẩn bước sóng.

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về trình chuyên môn.

- Hiệu chuẩn: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo

về quy trình chuyên môn.

- Tính toán và phiên giải kết quả: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Xem xét và phê duyệt: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiệt trùng, khử nhiễm: Trình độ 12/12 trở lên; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

## **2.2. Vật tư**

### **2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

-Còn 70%

### **2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Khẩu trang y tế.

- Găng tay y tế.

- Giấy thấm.

- Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.

- Văn phòng phẩm: bút, giấy A4, tem hiệu chuẩn.

## **2.3. Thiết bị**

- Bộ kính lọc chuẩn máy UV-VIS.

- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm môi trường.

## **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu**

### **2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận**

- Dùng giấy thấm, sạch vệ sinh toàn bộ máy, làm sạch bộ phận đặt cuvet.

- Bật máy để đèn và hệ thống điều khiển hoạt động ổn định trong 30 phút.

### **2.4.2. Kiểm tra bên ngoài**

- Kiểm tra các nhãn ghi các thông số như số serial máy, model, số nhận dạng, nơi sản xuất.

- Kiểm tra độ kín của nắp đậy, bị cong vênh, nứt, hở...

### **2.4.3. Kiểm tra kỹ thuật**

- Kiểm tra các tài liệu kỹ thuật kèm theo máy để xác định các thông số:

+ Dây bước sóng.

+ Độ chính xác bước sóng.

+ Độ chính xác lặp lại bước sóng.

+ Dây hấp thụ.



+ Độ chính xác hấp thụ của máy.

- Kiểm tra thời gian sử dụng còn lại của đèn, nếu cần thiết đề nghị thay đèn để đảm bảo độ chính xác hiệu chuẩn.

- Kiểm tra sự kết nối giữa máy tính, máy đọc và phần mềm điều khiển, nếu có.

## 2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn

Không áp dụng.

## 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện là 21 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại phòng Hiệu chuẩn có các yêu cầu về điều kiện như sau:

+ Nhiệt độ môi trường từ 23 °C đến 27 °C.

+ Độ ẩm môi trường (độ ẩm không khí trong phòng hiệu chuẩn) không quá 70%

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1 Kiểm tra bước sóng

##### a) Kiểm tra độ chính xác

- Chọn chức năng scan phổ, chọn data mode là absorbance, tốc độ quét thấp nhất của máy.

- Cho kính lọc Holmium oxide vào máy để đo kiểm tra bước sóng (250 □ 700nm) và kính lọc Neodym oxid kiểm tra bước sóng (700□900nm).

- Ghi nhận lại các bước sóng mà tại đó đạt độ hấp thụ cực đại.

- Thực hiện đo 3 lần.

- Tính bước sóng cực đại trung bình sau 3 lần đo tại thời điểm ban đầu:

$$\overline{\lambda_{0h}} = \frac{\sum \lambda_{0hi}}{3}$$

$\lambda_{0hi}$ : bước sóng đo lần thứ i tại thời điểm ban đầu.

- Tính sai số giữa giá trị đo trung bình của bước sóng và giá trị bước sóng chuẩn đối với mỗi cực đại:

$$WA = \overline{\lambda_{0h}} - \lambda_{ref}$$

WA: độ chính xác bước sóng

- Giới hạn chấp nhận:

+  $|WA| \leq$  Dung sai cho phép bước sóng.

- Trong đó: Dung sai cho phép bước sóng được tính bằng tổng dung sai chính xác bước sóng xác định trong tài liệu của máy và dung sai của thiết bị chuẩn cho trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn.

b) *Kiểm tra độ lặp lại bước sóng*

- Chọn chức năng scan phổ, chọn data mode là absorbance, tốc độ quét thấp nhất của máy.

- Cho kính lọc Holmium oxide vào máy để đo kiểm tra bước sóng (250 □ 700nm) và kính lọc Neodym oxid kiểm tra bước sóng (700 □ 900nm).

- Ghi nhận lại các bước sóng mà tại đó đạt độ hấp thụ cực đại.

- Thực hiện đo 7 lần.

- Độ lệch chuẩn của độ lặp lại

$$S_{\lambda_i} = \sqrt{\frac{\sum(\lambda_i - \bar{\lambda})^2}{n-1}}$$

n: số lần thực hiện phép đo.

c) *Kiểm tra độ trôi bước sóng*

- Thực hiện phép đo như mục a) sau 2 giờ và 4 giờ kể từ lúc bắt đầu thực hiện phép đo tại mục a)

- Tính bước sóng cực đại trung bình sau 2 giờ và 4 giờ:

$$\bar{\lambda}_{2h} = \frac{\sum \lambda_{2hi}}{3}$$

$$\bar{\lambda}_{4h} = \frac{\sum \lambda_{4hi}}{3}$$

$\lambda_{2hi}$ : bước sóng tại đó đo được độ hấp thụ cực đại lần thứ i sau 2 giờ.

$\lambda_{4hi}$ : bước sóng tại đó đo được độ hấp thụ cực đại lần thứ i sau 4 giờ.

- Độ trôi của phép đo bước sóng:

$$\lambda_{nys} = \max(|\bar{\lambda}_{2h} - \bar{\lambda}_{0h}|, |\bar{\lambda}_{4h} - \bar{\lambda}_{0h}|)$$

d) *Kiểm tra độ tái lập của bước sóng*

- Thực hiện đo 3 lần như mục 4.1.1 sau ít nhất 24 giờ kể từ lúc bắt đầu thực hiện phép đo tại mục 4.1.1.1

- Tính bước sóng cực đại trung bình:

$$\bar{\lambda}_{24h} = \frac{\sum \lambda_{24hi}}{3}$$

$\lambda_{24hi}$ : bước sóng đo được lần thứ i sau ít nhất 24 giờ.

- Độ tái lập của bước sóng:

$$\lambda_{repro} = |\bar{\lambda}_{24h} - \bar{\lambda}_{0h}|$$

**4.1.2 Kiểm tra độ hấp thụ**

*Handwritten signatures and initials.*

a) *Kiểm tra độ chính xác hấp thụ*

- Đo giá trị độ hấp thụ của các kính chuẩn độ hấp thụ bằng máy quang phổ tử ngoại khả kiến căn hiệu chuẩn tại các giá trị bước sóng 440.0 nm; 465.0 nm; 540.0 nm; 546.1 nm; 590 nm và 635.0 nm.

- Chọn chức năng Fixed Method, nhập các bước sóng cần đo độ hấp thụ vào các ô Wavelength. Chọn chế độ đo (Measurement mode) là A (Absorbance). Bấm nút Test hoặc Measure. Thực hiện đo 3 lần.

- Tính độ hấp thụ trung bình sau 3 lần tại thời điểm ban đầu:

$$\overline{A_{0h}} = \frac{\sum A_{0hi}}{3}$$

$A_{0hi}$ : độ hấp thụ đo lần thứ  $i$  ở thời điểm ban đầu tại mỗi mức hấp thụ ứng với mỗi bước sóng cài đặt.

- Tính sai số giữa giá trị đo trung bình độ hấp thụ và độ hấp thụ chuẩn tại mỗi mức hấp thụ ứng với mỗi bước sóng cài đặt.

$$\Delta A = \overline{A_{0h}} - A_{ref}$$

$\Delta A$ : độ chính xác hấp thụ

- Sai khác giữa trung bình kết quả đo được và giá trị của chuẩn độ hấp thụ phải nhỏ hơn tổng các sai số cho phép của máy quang phổ tử ngoại khả kiến căn kiểm định, xác định trong tài liệu kỹ thuật kèm theo máy, và sai số của thiết bị chuẩn cho trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn.

b) *Kiểm tra độ lặp lại hấp thụ*

- Đo giá trị độ hấp thụ của các kính chuẩn độ hấp thụ bằng máy quang phổ tử ngoại khả kiến căn hiệu chuẩn tại các giá trị bước sóng 440.0 nm; 465.0 nm; 540.0 nm; 546.1 nm; 590 nm và 635.0 nm.

- Chọn chức năng Fixed Method, nhập các bước sóng cần đo độ hấp thụ vào các ô Wavelength. Chọn chế độ đo (Measurement mode) là A (Absorbance). Bấm nút Test hoặc Measure. Thực hiện đo 7 lần.

- Độ lệch chuẩn của phép đo lặp lại:

$$s_{Ar} = \sqrt{\frac{\sum (A_i - \bar{A})^2}{n-1}}$$

$n$ : số lần thực hiện phép đo.

c) *Kiểm tra độ trôi hấp thụ*

- Thực hiện phép đo như mục 4.2.1 sau 2 giờ và 4 giờ kể từ lúc bắt đầu thực hiện phép đo tại mục 4.2.1.

- Tính độ hấp thụ trung bình sau 2 giờ và 4 giờ:

$$\overline{A_{2h}} = \frac{\sum A_{2hi}}{3}$$

$$\overline{A_{4h}} = \frac{\sum A_{4hi}}{3}$$



$A_{2hi}$ : độ hấp thụ đo lần thứ  $i$  sau 2 giờ tại mỗi mức hấp thụ ứng với mỗi bước sóng cài đặt.

$A_{4hi}$ : độ hấp thụ đo lần thứ  $i$  sau 4 giờ tại mỗi mức hấp thụ ứng với mỗi bước sóng cài đặt.

- Độ trôi của phép đo độ hấp thụ:

$$A_{hys} = \max(\bar{A}_{2h} - \bar{A}_{0h}, \bar{A}_{4h} - \bar{A}_{0h})$$

d) Kiểm tra độ tái lập hấp thụ

- Thực hiện đo 3 lần như mục 4.2.1 sau ít nhất 24 giờ kể từ lúc bắt đầu thực hiện phép đo tại mục 4.2.1.

- Tính độ hấp thụ trung bình:

$$\bar{A}_{24h} = \frac{\sum A_{24hi}}{3}$$

$A_{24hi}$ : độ hấp thụ đo lần thứ  $i$  sau 24 giờ tại mỗi mức hấp thụ ứng với mỗi bước sóng cài đặt.

- Độ tái lập của độ hấp thụ:

$$A_{repro} = \bar{A}_{24h} - \bar{A}_{0h}$$

#### 4.1.3. Ước lượng độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ)

a) Bước sóng

- Độ không đảm bảo đo  $u(\lambda_r)$  do lặp lại 7 lần đo trên máy với  $s_{\lambda_r}$  là độ lệch chuẩn:

$$u(\lambda_r) = s_{\lambda_r} / \sqrt{n}$$

$n$ : số lần đo lặp lại ( $n=7$ ).

$s_{\lambda_r}$ : độ lệch chuẩn của phép đo lặp lại.

- Độ không đảm bảo đo  $u(\lambda_s)$  từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn của kính lọc.

$$u(\lambda_s) = U(\lambda_s) / 2$$

$U(\lambda_s)$ : ĐKĐBĐ của kính lọc chuẩn bước sóng trên giấy chứng nhận.

- Độ không đảm bảo đo  $u(\lambda_b)$  do độ phân giải bước sóng của máy UV Vis:

$$u(\lambda_b) = b / (2 * \sqrt{3})$$

$b$  là độ phân giải bước sóng của thiết bị đo.

- Độ không đảm bảo đo  $u(\lambda_{hys})$  do độ trôi của phép đo bước sóng:

$$u(\lambda_{hys}) = \lambda_{hys} / \sqrt{3}$$

$\lambda_{hys}$ : Độ trôi của phép đo bước sóng.

- Độ không đảm bảo đo  $u(\lambda_{repro})$  do độ tái lập của phép đo bước sóng:

$$u(\lambda_{repro}) = \lambda_{repro} / \sqrt{3}$$

$\lambda_{repro}$ : Độ tái lập của phép đo bước sóng.

- Độ không đảm bảo đo tổng hợp  $u(\lambda)$ :

$$u(\lambda) = \sqrt{u_{\lambda r}^2 + u_{\lambda s}^2 + u_{\lambda b}^2 + u_{\lambda hys}^2 + u_{\lambda repro}^2}$$

b) *Độ hấp thụ*

- Độ không đảm bảo đo  $u(A_r)$  do lặp lại 7 lần đo trên máy với  $s_{Ar}$  là độ lệch chuẩn:

$$u(A_r) = s_{Ar} / \sqrt{n}$$

$n$ : số lần đo lặp lại.

$s_{Ar}$ : độ lệch chuẩn của phép đo lặp lại độ hấp thụ.

- Độ không đảm bảo đo  $u(A_s)$  từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn của kính lọc.

$$u(A_s) = U(A_s) / 2$$

$U(A_s)$ : ĐKĐBĐ của kính lọc chuẩn hấp thụ trên giấy chứng nhận.

- Độ không đảm bảo đo  $u(A_d)$  do độ phân giải bước sóng của máy UV Vis:

$$u(A_d) = d / (2 * \sqrt{3})$$

$d$  là độ phân giải của độ hấp thụ của thiết bị đo.

- Độ không đảm bảo đo  $u(A_{hys})$  do độ trôi của phép đo bước sóng:

$$u(A_{hys}) = A_{hys} / \sqrt{3}$$

$A_{hys}$ : Độ trôi của phép đo độ hấp thụ.

- Độ không đảm bảo đo  $u(A_{repro})$  do độ tái lập của phép đo bước sóng:

$$u(A_{repro}) = A_{repro} / \sqrt{3}$$

$A_{repro}$ : Độ tái lập của phép đo độ hấp thụ.

- Độ không đảm bảo đo tổng hợp  $u(A)$ :

$$u(A) = \sqrt{u_{Ar}^2 + u_{As}^2 + u_{Ad}^2 + u_{Ahys}^2 + u_{Arepro}^2}$$

c) *Tính ĐKĐBĐ mở rộng*

- Tính độ không đảm bảo đo mở rộng của bước sóng:

$$U\lambda = u(\lambda) \times 2$$

- Tính độ không đảm bảo đo mở rộng của độ hấp thụ:

$$UA = u(A) \times 2$$

#### 4.1.4 Khử nhiễm và xử lý mẫu

Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được vệ sinh sạch sẽ.

### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

### 4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

#### 4.3.1 Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Không áp dụng

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm).

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Ghi sai kết quả phép đo. Cần cẩn thận để không ghi sai kết quả đo.

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả.
- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Nội kiểm

Không áp dụng.

#### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng.

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- ĐLVN 91: 2001. Quang phổ tử ngoại khả kiến – Quy trình kiểm định tạm thời.
- Genesys10 spectrophotometer manual.
- Near - infrared spectrometers: A guide to Evaluating instrument calibration and performance- Unity scientific- Jerome Workman, Jr., Ph.D.; Bob schumann; Arnold Eilert, Ph.D.; Jan-Ake Persson, Ph.D.; and Rob Gajewski.
- UV/VIS Spectrophotometry Fundamentals and Applications –Mettler Toledo.



- Guide to the expression of uncertainty in measurement-JCGM 100:2008.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 282:****QUY TRÌNH HIỆU CHUẨN DỤNG CỤ THỦY TINH ĐO THỂ TÍCH BẰNG PHƯƠNG PHÁP CÂN****1. ĐẠI CƯƠNG****1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện, điều kiện hiệu chuẩn, trình tự, tính toán xử lý kết quả hiệu chuẩn dụng cụ thủy tinh đo thể tích nhằm đảm bảo việc hiệu chuẩn luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

**1.2. Định nghĩa****1.2.1. Định nghĩa**

Khối lượng quy ước: giá trị quy ước của kết quả cân trong không khí. Khối lượng quy ước là khối lượng của quả cân chuẩn có khối lượng riêng 8.000 kg/m<sup>3</sup> được cân trong không khí tại 20 °C có khối lượng riêng 1,2 kg/m<sup>3</sup>.

**1.2.2. Từ viết tắt**

KĐBĐ: Không đảm bảo đo

**1.3. Nguyên lý**

Nguyên lý của việc hiệu chuẩn dụng cụ thủy tinh đo thể tích (dung tích) thông qua chuẩn khối lượng của lượng nước cất mà dụng cụ thủy tinh đó hút, chứa hoặc chuyển được, từ đó xác định các sai số ngẫu nhiên, sai số hệ thống, đồng thời công bố độ không đảm bảo đo (KĐBĐ).

**2. CHUẨN BỊ****2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Hiệu chuẩn: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán và phiên giải kết quả: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Xem xét và phê duyệt: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiết trùng, khử nhiễm: Trình độ 12/12 trở lên; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

## 2.2. Vật tư

### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Cồn 70%.
- Nước cất 2 lần.
- Dung dịch ngâm làm sạch dụng cụ thủy tinh

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Khẩu trang y tế
- Găng tay y tế
- Giấy thấm
- Giấy chứng nhận hiệu chuẩn
- Văn phòng phẩm: bút, giấy A4, tem hiệu chuẩn

Bảo quản sinh phẩm, hóa chất, vật tư tiêu hao theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

## 2.3. Thiết bị

- Cân điện tử có độ phân giải và phạm vi cân phù hợp.
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm, áp suất hoặc tương đương.
- Nhiệt kế đo nhiệt độ nước hoặc tương đương.
- Thiết bị sấy khô dụng cụ thủy tinh.
- Đồng hồ bấm giây.
- Bàn chống rung.

## 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Loại mẫu: các loại dụng cụ thủy tinh đo thể tích có thể tích phù hợp.
- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu trước khi tiếp nhận.
- Sau khi tiếp nhận mẫu cần làm sạch các dụng cụ thủy tinh bằng các dung dịch làm sạch sau đó để khô và đặt các là vào phòng hiệu chuẩn tối thiểu 2h trước khi tiến hành hiệu chuẩn.

### 2.4.2. Kiểm tra bên ngoài trước khi hiệu chuẩn

- Kiểm tra tính nguyên vẹn: Nếu một phương tiện đo dung tích bằng thủy tinh bị sứt hoặc hỏng hóc vì bất kỳ lý do nào cũng không được sử dụng nữa. Việc sử dụng nó không những không an toàn mà còn có thể dẫn đến những kết quả không chính xác.

- Kiểm tra độ sạch: phương tiện đo được kiểm tra để sử dụng phải sạch và không có bụi.

- Kiểm tra kỹ về độ sạch: nước cất sau khi chảy qua phải được ráo hết bên trong phương tiện đo, không xuất hiện các giọt nước riêng biệt còn bám trên bề mặt bên trong của phương tiện đo, không có dầu mỡ bám ở thành bên trong. Loại bỏ những cặn,



bụi bẩn dính trên phương tiện đo bằng cách lau chùi, hoặc rửa bằng nước.

- Nhãn ghi, vạch chia độ và những dấu hiệu liên quan khác: chúng phải rõ ràng và dễ đọc, không bị mờ hoặc không thể phân biệt.

- Sử dụng đồng hồ bấm giây để đo thời gian xả của dụng cụ thủy tinh đo thể tích chia độ.

**Thời gian xả của buret chia độ:**

Buret 2 loại là: Buret không có thời gian chờ (Cấp A và cấp B) và buret có thời gian chờ 30 giây (Cấp AS).

Bảng 1: Thời gian xả quy định đối với loại buret không quy định thời gian chờ (Theo TCVN 7149-2007):

Dung tích danh định (mL)	Giá trị độ chia (mL)	Thời gian xả (giây)			
		Cấp A		Cấp B	
		Nhỏ nhất	Lớn nhất	Nhỏ nhất	Lớn nhất
1	0,01	20	50	20	50
2	0,01	15	45	10	45
5	0,01	20	75	20	65
5	0,02	20	75	20	65
10	0,02	75	95	40	95
10	0,05	75	95	45	75
25	0,05	70	100	30	70
25	0,10	35	75	30	70
50	0,10	50	100	40	100
100	0,20	60	100	30	100

Bảng 2: Thời gian xả đối với loại buret quy định thời gian chờ là 30 giây – cấp chính xác AS (Theo TCVN 7149-2007):

Dung tích danh định (mL)	Giá trị độ chia (mL)	Thời gian xả (giây)	
		Nhỏ nhất	Lớn nhất
2	0,01	8	20

*Handwritten signatures and marks.*

5	0,01	15	25
5	0,02	15	25
10	0,02	35	45
10	0,05	35	45
25	0,05	35	45
25	0,10	35	45
50	0,10	35	45

Thời gian xả của pipet 1 mức:

Bảng 3: Thời gian xả (giây) quy định đối với pipet 1 mức không quy định thời gian chờ - Cấp A và B (Theo TCVN 7151-2010)

Dung tích danh nghĩa ML		0,5	1	2	5	10	20	25	50	100
Cấp A	min.	10	10	10	15	15	25	25	30	40
	max.	20	20	25	30	40	50	50	60	60
Cấp AS	min.	6	7	7	9	11	12	15	20	25
	max.	10	11	11	13	15	16	20	25	30
Cấp B	min.	4	5	5	7	8	9	10	13	25
	max.	20	20	25	30	40	50	50	60	60
Sự chênh lệch cho phép lớn nhất giữa thời gian xả thực tế và thời gian xả quy định	max.	2	2	2	3	3	4	4	5	5

Đối với pipet 1 mức quy định thời gian chờ là 5 giây (cấp AS) thì thời gian chờ ghi trên pipet.

Thời gian xả của pipet chia độ

Pipet chia độ được chia thành 4 kiểu được mô tả ở bảng 4.

Bảng 4: Các kiểu của pipet chia độ (theo TCVN 7150:2007)

Kiểu	Mô tả	
	Dung tích danh định	Dung tích lấy ra
1	Vạch 0 □ lớn nhất	Vạch 0 □ dung tích lấy ra
2	Lớn nhất □ vòì xả	Dung tích lấy ra □ vòì xả
3	Vạch 0 □ vòì xả	Vạch 0 □ dung tích lấy ra
4 (Thỏi ra)	Lớn nhất □ vòì xả	Dung tích lấy ra □ vòì xả

Bảng 5: Thời gian xả của pipet chia độ kiểu 1 (theo TCVN 7150:2007)

Dung tích danh định (mL)	Giá trị vạch chia nhỏ nhất (mL)	Thời gian xả (giây)					
		Cấp A		Cấp AS		Cấp B	
		nhỏ nhất	lớn nhất	nhỏ nhất	lớn nhất	nhỏ nhất	lớn nhất
0,1	0,01	2	3	-	-	2	3
0,2	0,01	2	4	-	-	2	4
0,5	0,01	-	-	4	10	2	11
1	0,01	7	10	4	10	2	11
1	0,10	2	10	4	10	2	11
2	0,02	8	12	4	10		12
2	0,10	2	12	4	10	2	12
5	0,05	10	14	7	13	5	14
5	0,10	4	14	7	13	5	14
10	0,1	13	17	7	13	5	17
20	0,1	-	-	11	17	9	21
25	0,1	15	21	11	17	9	21
25	0,2	5	15	-	-	5	15



Bảng 6: Thời gian xả của pipet chia độ kiểu 2 (theo TCVN 7150:2007)

Dung tích danh định (mL)	Giá trị vạch chia nhỏ nhất (mL)	Thời gian xả (giây)					
		Cấp A		Cấp AS		Cấp B	
		nhỏ nhất	lớn nhất	nhỏ nhất	lớn nhất	nhỏ nhất	lớn nhất
0,1	0,01	1	3	-	-	1	3
0,2	0,01	1	4	-	-	1	4
0,5	0,01	-	-	4	10	2	11
1	0,01	5	7	4	10	2	11
1	0,10	2	7	4	10	2	11
2	0,02	6	9	4	10	2	12
2	0,10	2	9	4	10	2	12
5	0,05	8	11	7	13	5	14
5	0,10	4	11	7	13	5	14
10	0,1	10	13	7	13	5	17
20	0,1	-	-	11	17	9	21
25	0,1	11	16	11	17	9	21
25	0,2	11	16	-	-	9	21

Bảng 7: Thời gian xả của pipet chia độ kiểu 3 (theo TCVN 7150:2007)

Dung tích danh định (mL)	Giá trị vạch chia nhỏ nhất (mL)	Thời gian xả (giây)					
		Cấp A		Cấp AS		Cấp B	
		nhỏ nhất	lớn nhất	nhỏ nhất	lớn nhất	nhỏ nhất	lớn nhất
0,1	0,01	1	3	-	-	1	3
0,2	0,01	1	4	-	-	1	4
0,5	0,01	-	-	4	10	2	11
1	0,01	5	7	4	10	2	11

1	0.10	5	7	4	10	2	11
2	0,02	6	9	4	10	2	12
2	0,10	6	9	4	10	2	12
5	0,05	8	11	7	13	5	14
5	0,10	8	11	7	13	5	14
10	0,1	10	13	7	13	5	17
20	0,1	-	-	11	17	9	21
25 <sup>a</sup>	0,1	11	16	11	17	9	21
25	0,2	11	16	-	-	9	21

Bảng 8: Thời gian xả của pipet chia độ kiểu 4 (theo TCVN 7150:2007)

Dung tích danh định (mL)	Giá trị vạch chia nhỏ nhất (mL)	Thời gian xả (giây)	
		Cấp B	
		nhỏ nhất	lớn nhất
0,1	0,01	1	3
0,2	0,01	1	4
1	0,01	2	7
1	0,10	2	7
2	0,02	2	7
2	0,10	2	7
5	0,05	4	10
5	0,10	4	10
10	0,1	4	10
25	0,2	5	15

## 2.4.2. Xác định mức hiệu chuẩn

- Xác định mức hiệu chuẩn: nếu dụng cụ thủy tinh đo thể tích có 1 mức dung tích thì tiến hành hiệu chuẩn ở dung tích danh nghĩa đó. Trong trường hợp dụng cụ thủy tinh đo thể tích có nhiều mức (có thang đo) thì tiến hành hiệu chuẩn tại ít nhất 3 mức dung tích sau:

- + Dung tích danh nghĩa;
- + 50% dung tích danh nghĩa;
- + Giới hạn dưới của phạm vi đo hoặc 10% dung tích danh nghĩa tùy mức nào lớn hơn.

- Trường hợp khách hàng yêu cầu các mức cụ thể thì hiệu chuẩn theo yêu cầu của khách hàng và không quá 3 mức đối với một lần hiệu chuẩn.

#### 2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng

Sử dụng cân có độ phân giải và phạm vi đo phù hợp:

### 2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn

Không áp dụng.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện là 04 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại phòng Hiệu chuẩn có các yêu cầu về điều kiện như sau:
- Phòng dùng để hiệu chuẩn: Độ ẩm 30-90 %, nhiệt độ: 15-30°C.

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1 Bình định mức theo kiểu “đổ vào”

Tiến hành đo 5 lần, mỗi lần đo thực hiện theo các bước sau:

- Đặt bình định mức đã được làm sạch và làm khô lên bàn cân, nhấn nút trừ bị (TARE), sau đó lấy bình ra.

- Đọc và ghi nhiệt độ của nước cất trong bình chứa.

- Đặt bình định mức lên mặt phẳng và nạp nước cất vào bình cho tới khi mặt cong của nước trùng với mép trên của vạch dấu tương ứng.

- Kiểm tra và loại trừ nước còn bám dính ở bên ngoài, ở phần trên vạch dấu bên trong bình và bọt khí trong bình.

- Đặt bình có nước lên bàn cân, ghi khối lượng của nước,  $I_L$ .

- Đọc và ghi giá trị nhiệt độ, áp suất và độ ẩm của môi trường.

- Đổ hết nước trong bình ra, làm khô bình bằng cách cho cồn vào tráng qua và đổ



hết còn ra, để bình khô.

- Tiếp tục đặt bình cân lên bàn cân, nhấn trừ bì (TARE) và thực hiện các bước tiếp theo như lần 1 cho đến lần thứ 5.

#### 4.1.2 Bình định mức kiểu “đổ ra”

Tiến hành đo 5 lần, mỗi lần đo thực hiện theo các bước sau:

- Nạp đầy bình định mức đã được làm sạch tới vạch dấu tương ứng.
- Đổ hết nước ra khỏi bình, cho nước chảy nhỏ giọt trong thời gian 60 giây.
- Đặt bình lên mặt bàn cân để xác định khối lượng bình rỗng, ghi I<sub>E</sub>.
- Đọc và ghi nhiệt độ của nước cất trong bình chứa.
- Đặt bình định mức lên mặt phẳng và nạp nước cất vào bình cho đến khi mặt cong của nước trùng với mép trên của vạch dấu tương ứng.
- Kiểm tra và loại trừ nước còn bám dính ở bên ngoài, ở phần trên vạch dấu bên trong bình và bọt khí trong bình.
- Xác định khối lượng của bình có chứa nước cất, ghi I<sub>L</sub>.
- Đọc và ghi giá trị nhiệt độ, áp suất và độ ẩm của môi trường.

#### 4.1.3 Buret chia độ

Tiến hành hiệu chuẩn tại 3 vạch dấu là 100%, 50%, 10% (hoặc mức Min) thể tích danh định. Mỗi vạch dấu tiến hành đo lường 5 lần, mỗi lần đo thực hiện theo các bước sau:

- Đặt buret vào giá đỡ theo vị trí thẳng đứng.
- Đọc và ghi nhiệt độ của nước cất trong bình chứa.
- Nạp nước cất vào buret tới mức cao hơn vạch dấu “0”.
- Lau sạch nước còn bám dính bên ngoài đầu vòi xả.
- Xả nước từ từ vào bình chứa cho tới khi mặt cong của nước trùng với mép trên của vạch dấu tương ứng.
- Khẽ chạm thành ướt của bình chứa vào đầu vòi xả để loại trừ hết nước còn bám dính ở đó.
- Kiểm tra và loại trừ nước còn bám dính ở bên ngoài, phần ở trên vạch dấu bên trong buret và bọt khí trong buret.
- Đặt bình cân lên cân và nhấn trừ bì.
- Xả nước tự do từ buret vào bình cân và chú ý để thành của bình cân không chạm vào đầu vòi xả của buret.
- Giữ khóa van xả ở vị trí mở hoàn toàn cho tới khi mức nước chỉ còn cách vạch dấu tương ứng vài mm thì giảm dòng chảy và điều chỉnh sao cho mặt cong của nước vừa chạm vào mép trên của vạch dấu tương ứng.
- Khẽ chạm thành trong của bình cân vào đầu vòi xả của buret để thu hết nước vào bình cân.

- Xác định khối lượng cầu bình cân có chứa nước cất, ghi  $I_L$ .
- Đọc và ghi giá trị nhiệt độ, áp suất và độ ẩm của môi trường.

#### 4.1.4 Pipet chia độ

Tiến hành hiệu chuẩn tại 3 vạch dấu là 100%, 50%, 10% (hoặc mức Min) thể tích danh định. Mỗi vạch dấu tiến hành đo lường 5 lần, mỗi lần đo thực hiện theo các bước sau:

- Đọc và ghi nhiệt độ của nước trong bình chứa.
- Đặt bình cân lên cân và nhấn nút trừ bì.
- Nhúng đầu mút của pipet vào nước cất và hút nước để nạp vào pipet tới mức cao hơn vạch dấu trên cùng. Giữ pipet ở vị trí thẳng đứng.
- Xả nước từ từ cho đến khi mặt cong của nước trùng với mép trên của vạch dấu tương ứng.
- Khẽ chạm thành ước của bình chứa vào đầu mút của pipet để loại trừ hết nước còn bám dính ở đó.
- Kiểm tra và loại trừ nước còn bám dính trên bề mặt bên ngoài và bên trong pipet ở phí trên vạch dấu và bọt khí trong pipet.
- Xả nước tự do từ pipet vào bình cân, để thành trong của bình cân khẽ chạm vào đầu mút pipet.
- Đợi cho nước xả ra hoàn toàn khỏi pipet cho tới khi mặt cong của nước dừng lại ngay tại đầu mút của pipet. Sau vài giây, khẽ dịch chuyển đầu mút của pipet dọc thành của bình cân để thu nốt giọt chất lỏng còn đọng tại đó.

- Xác định khối lượng của bình cân có chứa nước cất, ghi  $I_L$ .
- Đọc và ghi giá trị nhiệt độ, áp suất và độ ẩm của môi trường.

#### 4.1.5 Pipet một mức

- Đọc và ghi nhiệt độ nước cất trong bình chứa.
- Đặt bình cân lên cân và nhấn nút trừ bì.
- Nhúng đầu mút của pipet vào nước cất và hút nước để nạp nước vào pipet tới mức cao hơn vạch dấu giới hạn trên cùng của pipet. Giữ pipet ở vị trí thẳng đứng.
- Xả nước từ từ cho đến khi mặt cong của nước trùng với mép trên của vạch dấu giới hạn trên cùng, khẽ chạm thành ước của bình chứa vào đầu mút của pipet để loại trừ hết nước còn bám dính ở đó.
- Kiểm tra và loại trừ nước còn bám dính trên bề mặt bên ngoài bằng giấy thấm.
- Xả nước tự do từ pipet vào bình cân, để thành trong của bình cân khẽ chạm vào đầu mút pipet.
- Đợi cho nước xả ra hoàn toàn khỏi pipet. Sau vài giây, khẽ dịch chuyển đầu mút của pipet dọc thành của bình cân để thu nốt giọt chất lỏng còn đọng tại đó.
- Xác định khối lượng của bình cân có chứa nước cất, ghi  $I_L$ .
- Đọc giá trị nhiệt độ, áp suất và độ ẩm của môi trường.

## 4.1.6 Ống đong, cốc đong

Tiến hành hiệu chuẩn tại 3 vạch đầu là 100%, 50%, 10% (hoặc mức Min) thể tích danh định. Các bước thực hiện ở mỗi vạch đầu tương tự như đối với hiệu chuẩn bình định mức (xem 4.1.1&4.1.2).

4.1.7 Tính  $V_{20}$  và độ không đảm bảo đo

- Tính dung tích thực quy ước của phương tiện đo tại vạch đầu kiểm tra ( $V_{20}$ )

Dung tích thực quy ước của phương tiện đo tại vạch đầu kiểm tra là thể tích nước cất tương ứng với vạch đầu đó và được tính theo công thức:

$$V_{20} = (I_L - I_E) \left( \frac{1}{\rho_w - \rho_A} \right) \left( 1 - \frac{\rho_A}{\rho_B} \right) [1 - \gamma(t_w - 20)] \quad (\text{mL}) \quad (1)$$

Trong đó:

$V_{20}$ : Thể tích nước cất quy về nhiệt độ  $20^{\circ}\text{C}$  (mL).

$I_L$ : Khối lượng của phương tiện đo hoặc bình cân có chứa nước cất (g).

$I_E$ : Khối lượng của phương tiện đo hoặc bình cân rỗng (g).

$t_w$ : nhiệt độ nước cất ( $^{\circ}\text{C}$ ).

$\gamma$ : hệ số dẫn nở khối do nhiệt độ của vật liệu chế tạo dụng cụ thủy tinh đo ( $1/^{\circ}\text{C}$ ).

$\rho_B$ : Khối lượng riêng của quả cân chuẩn dùng để hiệu chuẩn cân.

$\rho_w$ : Khối lượng riêng của nước cất tại nhiệt độ thực tế (g/mL), được tính theo công thức:

$$\rho_w = \left( \sum_{n=0}^4 [a_n (t_w)^n] \right) = a_0 + a_1 t_w + a_2 t_w^2 + a_3 t_w^3 + a_4 t_w^4 \times 10^{-3} \quad (\text{g/mL}) \quad (2)$$

Với:  $a_0 = 9,9985308 \times 10^2 \text{ kg/m}^3$ ;

$a_1 = 6,326930 \cdot 10^{-2} (\text{ }^{\circ}\text{C})^{-1} \cdot \text{kg/m}^3$ ;

$a_2 = -8,523829 \cdot 10^{-3} (\text{ }^{\circ}\text{C})^{-2} \cdot \text{kg/m}^3$ ;

$a_3 = 6,943248 \cdot 10^{-5} (\text{ }^{\circ}\text{C})^{-3} \cdot \text{kg/m}^3$ ;

$a_4 = -3,821216 \cdot 10^{-7} (\text{ }^{\circ}\text{C})^{-4} \cdot \text{kg/m}^3$ .

$\rho_A$ : Khối lượng riêng của không khí (g/mL), được tính theo công thức:

$$\rho_A = \frac{(0,34848 p_a + h_r (0,0205 - 0,00252 t_a)) \times 10^{-3}}{t_a + 273,15} \quad (\text{g/mL}) \quad (3)$$

Với:

+  $p_a$ : áp suất không khí khi cân, hPa.

+  $h_r$ : độ ẩm không khí khi cân, %rH.

+  $t_a$ : nhiệt độ không khí khi cân,  $^{\circ}\text{C}$ .



- Tính trung bình  $V_{20}$

$$\overline{V_{20}} = \frac{1}{5} \times \sum_{i=1}^5 V_{20i} \quad (\text{mL}) \quad (4)$$

- Tính sai số (Error)

$$+ \text{ Sai số (Error)} = V_{dd} - \overline{V_{20}} (\text{mL}) \quad (5)$$

Sai số cho phép lớn nhất của các dụng cụ thủy tinh đo thể tích không được vượt quá quy định tại phụ lục 1,2,3,4,5,6,7.

4.1.8. Tính độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ)

4.1.8.1 Mô hình toán ước lượng độ không đảm bảo đo

Tính độ không đảm bảo đo từ phương trình tính toán  $V_{20}$  như sau:

$$V_{20} = m \times \frac{1}{\rho_w - \rho_a} \times \left( 1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) \times [1 - \gamma(t_w - 20)] + \delta V_{rep} + \delta V_{men} + \delta V_{vap} \quad (\text{mL}) \quad (7)$$

Trong đó:

- $m$  : khối lượng của nước cân được (chỉ thị trên cân).
- $t_w$  : nhiệt độ của nước dùng để hiệu chuẩn.
- $\rho_w$  : khối lượng riêng của nước.
- $\rho_A$  : khối lượng riêng của không khí.
- $\rho_B$  : khối lượng riêng của quả cân dùng để hiệu chuẩn cân.
- $\gamma$  : hệ số nở khối của vật liệu chế tạo phương tiện đo.
- $\delta V_{men}$ : sai số do việc xác định vị trí mặt cong của nước tại vạch mức
- $\delta V_{rep}$ : sai số do yếu tố lặp lại phép đo.
- $\delta V_{vap}$ : sai số do bay hơi nước trong quá trình hiệu chuẩn.

4.1.8.2. Các thành phần tham gia vào ĐKĐBĐ khi xác định thể tích bao gồm

- ĐKĐBĐ của khối lượng nước cân được.
- ĐKĐBĐ của nhiệt độ nước.
- ĐKĐBĐ của khối lượng riêng của nước.
- ĐKĐBĐ của khối lượng riêng không khí.
- ĐKĐBĐ của hệ số dẫn nở khối do nhiệt độ của các dụng cụ thủy tinh.
- ĐKĐBĐ do đọc mặt cong.
- ĐKĐBĐ do sự lặp lại của phép đo.
- ĐKĐBĐ do sự bay hơi của nước trong quá trình hiệu chuẩn.
- Đối với khối lượng riêng quả cân chuẩn: Do độ không đảm bảo đo của quả cân

chuẩn dùng để hiệu chuẩn cân đã được tính trong độ không đảm bảo đo của cân dùng để hiệu chuẩn, đồng thời trong quá trình hiệu chuẩn không sử dụng quả cân chuẩn nên không tính độ không đảm bảo đo do khối lượng riêng của quả cân chuẩn.

#### **ĐKKĐBĐ chuẩn của khối lượng nước $u(m)$**

$$u_m = \frac{u_{can}}{2} \quad (\text{g}) \quad (8)$$

Với:  $u(m)$ : độ không đảm bảo đo của khối lượng đo.

$u_{can}$  là độ không đảm bảo đo của cân chuẩn dùng để hiệu chuẩn, lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn cân.

#### **ĐKĐBĐ chuẩn của nhiệt độ nước**

Độ KĐBĐ của nhiệt độ nước bao gồm 3 thành phần:

- Độ KĐBĐ từ nhiệt kế đo nước (lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn của nhiệt kế):

$$u_1(t_w) = \frac{U_{nk}}{2} \quad (^\circ\text{C}) \quad (9)$$

- Độ KĐBĐ từ độ ổn định nhiệt độ của nước trong quá trình hiệu chuẩn

$$u_2(t_w) = \frac{t_{w\max} - t_{w\min}}{\sqrt{6}} \quad (^\circ\text{C}) \quad (10)$$

- Độ KĐBĐ từ độ đồng đều nhiệt của nước cất. Chênh lệch nhiệt độ giữa các điểm khác nhau của nước cất trong cốc chứa khoảng  $\pm 0,1^\circ\text{C}$

$$u_3(t_w) = \frac{0,1}{\sqrt{3}} \quad (^\circ\text{C}) \quad (11)$$

Vậy độ KĐBĐ của nhiệt độ nước là:

$$u(t_w) = \sqrt{u_1(t_w)^2 + u_2(t_w)^2 + u_3(t_w)^2} \quad (^\circ\text{C}) \quad (12)$$

#### **ĐKĐBĐ chuẩn của khối lượng riêng của nước**

Độ KĐBĐ của khối lượng riêng nước cất bao gồm 2 thành phần:

- Độ KĐBĐ đo của bản thân công thức Tanaka: thành phần này được ước lượng bằng  $1 \times 10^{-6}$  giá trị khối lượng riêng nước cất

$$u_1(\rho_w) = 1 \times 10^{-6} \times \rho_w \quad (\text{g/mL}) \quad (13)$$

- Độ KĐBĐ đo xác định nhiệt độ nước cất: từ phương trình Tanaka (công thức 2), thành phần độ KĐBĐ này được tính theo công thức

$$u_2(\rho_w) = (a_1 + 2a_2 t_w + 3a_3 t_w^2 + 4a_4 t_w^3) \times u(t_w) \quad (\text{g/mL}) \quad (14)$$

Vậy độ KĐBĐ của khối lượng riêng nước cất bằng

*Handwritten signatures and marks.*

$$u(\rho_w) = \sqrt{u_1(\rho_w)^2 + u_2(\rho_w)^2} \quad (\text{g/mL}) \quad (15)$$

### ĐKĐBĐ chuẩn của khối lượng riêng không khí

Độ KĐBĐ của khối lượng riêng không khí bao gồm 2 thành phần:

- Độ KĐB đo của bản thân công thức tính khối lượng không khí (3): thành phần này được ước lượng bằng  $1 \times 10^{-4}$  giá trị khối lượng riêng không khí

$$u_1(\rho_a) = 1 \times 10^{-4} \times \rho_a \quad (\text{g/mL}) \quad (16)$$

- Độ KĐBĐ do xác định nhiệt độ, độ ẩm, áp suất không khí: từ công thức 3, thành phần độ KĐBĐ này được tính theo công thức

$$u_2(\rho_a) = \sqrt{\left(\frac{k_1}{t_a + t_0}\right)^2 u^2(p_a) + \left(\frac{k_2 t_a + k_3}{t_a + t_0}\right)^2 u^2(\varphi) + \left[\frac{(k_2 t_0 - k_3)\varphi - k_1 p_a}{(t_a + t_0)^2}\right]^2 u^2(t_a)} \quad (17)$$

Trong đó:

$t_a$ ,  $u(t_a)$  là nhiệt độ môi trường và ĐKĐBĐ của nhiệt độ môi trường

Độ KĐBĐ của nhiệt độ môi trường gồm 3 thành phần:

- Độ KĐBĐ từ nhiệt kế đo môi trường (lấy từ GCN hiệu chuẩn của nhiệt kế):

$$u_1(t_a) = \frac{U_{nk}}{2} \quad (^\circ\text{C}) \quad (18)$$

- Độ KĐBĐ từ độ ổn định nhiệt độ của môi trường trong quá trình hiệu chuẩn

$$u_2(t_a) = \frac{t_{a\max} - t_{a\min}}{\sqrt{6}} \quad (^\circ\text{C}) \quad (19)$$

- Độ KĐBĐ từ độ đồng đều nhiệt của môi trường. Chênh lệch nhiệt độ giữa các vị trí khác nhau của phòng hiệu chuẩn khoảng  $\pm 0,5^\circ\text{C}$

$$u_3(t_a) = \frac{0,5}{\sqrt{3}} \quad (^\circ\text{C}) \quad (20)$$

Vậy độ KĐBĐ của nhiệt độ môi trường bằng

$$u(t_a) = \sqrt{u_1(t_a)^2 + u_2(t_a)^2 + u_3(t_a)^2} \quad (^\circ\text{C}) \quad (21)$$

$\square$ ,  $u(\square)$ : là độ ẩm môi trường và độ KĐBĐ của độ ẩm môi trường

Độ KĐBĐ của độ ẩm môi trường bao gồm 3 thành phần

- Độ KĐBĐ từ ẩm kế đo môi trường (lấy từ GCN hiệu chuẩn của ẩm kế):

$$u_1(\square) = \frac{U_{ak}}{2} \quad (\%rH) \quad (22)$$

- Độ KĐBĐ từ độ ổn định độ ẩm của môi trường trong quá trình hiệu chuẩn



$$u_2(\varphi) = \frac{\varphi_{\max} - \varphi_{\min}}{\sqrt{6}} (\%rH) \quad (23)$$

- Độ KĐBĐ từ độ đồng đều của độ ẩm môi trường. Chênh lệch độ ẩm giữa các vị trí khác nhau của phòng hiệu chuẩn khoảng  $\pm 5\%$

$$u_3(\varphi) = \frac{5}{\sqrt{3}} (\%rH) \quad (24)$$

Vậy độ KĐBĐ của độ ẩm môi trường là:

$$u(\varphi) = \sqrt{u_1(\varphi)^2 + u_2(\varphi)^2 + u_3(\varphi)^2} (\%rH) \quad (25)$$

**$p_a$ ,  $u(p_a)$ : là áp suất không khí và độ KĐBĐ của áp suất không khí**

Độ KĐBĐ của áp suất không khí bao gồm 2 thành phần

- Độ KĐBĐ từ khí áp kế (lấy từ GCN hiệu chuẩn của khí áp kế):

$$u_1(p_a) = \frac{U_{kak}}{2} \quad (\text{hPa}) \quad (26)$$

- Độ KĐBĐ từ độ ổn định áp suất không khí trong quá trình hiệu chuẩn

$$u_2(p_a) = \frac{P_{a\max} - P_{a\min}}{2 \times \sqrt{3}} \quad (\text{hPa}) \quad (27)$$

Vậy độ KĐBĐ của áp suất không khí là:

$$u(p_a) = \sqrt{u_1(p_a)^2 + u_2(p_a)^2} \quad (\text{hPa}) \quad (28)$$

Vậy độ KĐBĐ của khối lượng riêng không khí là:

$$u(\rho_a) = \sqrt{u_1(\rho_a)^2 + u_2(\rho_a)^2} \quad (29)$$

**ĐKĐBĐ chuẩn của hệ số dẫn nở khối do nhiệt độ của các dụng thủy tinh cụ hiệu chuẩn**

Bảng 9: Hệ số dẫn nở của các vật liệu làm thủy tinh (Theo ISO 4787:2010):

Vật liệu	Hệ số nở khối ( $\gamma$ ) $^{\circ}\text{C}^{-1} \times 10^{-6}$
Borosilicate glass 3.3	9,9
Borosilicate 5.0	15
Soda – lime glass	27

Do đó, ĐKĐBĐ của hệ số dẫn nở các vật liệu làm thủy tinh tương ứng là:

- Borosilicate 3.3:  $u(\gamma) = \frac{9,9 \times 10^{-6}}{\sqrt{3}} / ^\circ\text{C}$  (30)

- Borosilicate 5.0:  $u(\gamma) = \frac{15 \times 10^{-6}}{\sqrt{3}} / ^\circ\text{C}$  (31)

- Soda Lime:  $u(\gamma) = \frac{27 \times 10^{-6}}{\sqrt{3}} / ^\circ\text{C}$  (32)

Thông thường, pipet chia độ và một mức sử dụng vật liệu là soda-lime; Burret, bình định mức, ống đong, cốc đong sử dụng vật liệu là borrosilicate glass 3.3.

#### **ĐKĐBĐ do đọc mặt cong**

- ĐKĐBĐ do đọc mặt cong của các dụng cụ thủy tinh chia độ:

$$u(\delta V_{\text{men}}) = \text{Giá trị vạch chia nhỏ nhất} / (2 \times \sqrt{3}) \quad (33)$$

- ĐKĐBĐ do đọc mặt cong của các dụng cụ thủy tinh 1 mức:

$$u(\delta V_{\text{men}}) = \frac{\pi \times \left(\frac{d}{2}\right)^2 \times u_p}{\sqrt{3}} \quad (34)$$

Trong đó:  $d$  là đường kính trong, nơi có vạch chia của dụng cụ thủy tinh 1 mức (xem phụ lục 14,15,16)

$u_p$  là độ không đảm bảo đo do đọc và xác định vị trí thấp nhất của mặt cong,  $u_p=0,05\text{mm}$ .

#### **ĐKĐBĐ chuẩn do sự lặp lại của phép đo (ĐKĐBĐ loại A)**

+ Tính giá trị trung bình từ  $n$  phép đo lặp lại:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (35)$$

+ Tính phương sai thực nghiệm của  $n$  phép đo thể tích độc lập:

$$s(V_0) = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (36)$$

+ ĐKĐBĐ do sự lặp lại của phép đo chính là độ lệch chuẩn thực nghiệm của trung bình:

$$u(\delta V_{\text{rep}}) = \frac{s(V_0)}{\sqrt{n}} \quad (37)$$

#### **ĐKĐBĐ do sự bay hơi của nước**

Do quá trình hiệu chuẩn được tiến hành nhanh và sử dụng bình cân kín nên sự bay hơi của nước là không đáng kể. Do vậy ĐKĐBĐ do sự bay hơi của nước =0.

4.1.8.3 Tính hệ số độ nhạy của mỗi lượng đầu vào

Từ công thức tính (7) tính  $V_{20}$ :

$$\text{Đặt } A = \frac{1}{\rho_w - \rho_A}; B = 1 - \left(\frac{\rho_A}{\rho_B}\right); C = 1 - \gamma(T - 20); m = I_L - I_E$$

Thế vào phương trình (7) ta có:

$$V_{20} = m \times A \times B \times C + \delta V_{men} + \delta V_{rep} \quad (38)$$

Đạo hàm  $V_{20}$  đối với từng biến trong phương trình (38) ta có:

#### Hệ số độ nhạy của khối lượng

$$\frac{\partial V_{20}}{\partial m} = A \times B \times C \quad (39)$$

#### Hệ số độ nhạy của nhiệt độ nước:

$$\frac{\partial V_{20}}{\partial t} = m \times A \times B \times (-\gamma) \quad (40)$$

#### Hệ số độ nhạy của khối lượng riêng nước

$$\frac{\partial V_{20}}{\partial \rho_w} = -m \times B \times C \times \frac{1}{(\rho_w - \rho_A)^2} = -m \times A^2 \times B \times C \quad (41)$$

#### Hệ số độ nhạy của khối lượng riêng không khí:

$$\frac{\partial V_{20}}{\partial \rho_A} = m \times A \times C \times \left[ \frac{1}{\rho_w - \rho_A} \times \left(1 - \frac{\rho_A}{\rho_B}\right) - \frac{1}{\rho_B} \right] = m \times A \times C \times \left( B \times A - \frac{1}{\rho_B} \right) \quad (42)$$

#### Hệ số độ nhạy của hệ số dẫn nở khối do nhiệt độ của các dụng cụ thủy tinh:

$$\frac{\partial V_{20}}{\partial \gamma} = m \times A \times B \times [-(T - 20)] \quad (43)$$

#### Hệ số độ nhạy do đọc mặt cong:

$$\frac{\partial V_{20}}{\partial \rho V_{men}} = 1 \quad (44)$$

#### Hệ số độ nhạy do sự lặp lại các phép đo:

$$\frac{\partial V_{20}}{\partial \delta V_{rep}} = 1 \quad (45)$$

#### 4.1.8.4 Độ KĐBĐ tổng hợp của phép đo

Từ công thức tính ĐKĐBĐ tổng hợp của GUM

$$u(V_{20}) = \sqrt{\sum_{i=1}^n c_i^2 \times u(x_i)^2} \quad (46)$$

Trong đó

$u(x_i)$ : ĐKĐBĐ chuẩn của thành phần thứ  $i$

$n$ : số thành phần ĐKĐBĐ

*Handwritten signatures*



$c_i$ : hệ số nhạy của thành phần thứ  $i$

$$c_i = \frac{\partial V_{20}}{\partial x_i}$$

Thay các thành phần đầu vào của ĐKĐBĐ đã tính, công thức (29) sẽ là là:

$$u(V_0) = \sqrt{\left(\frac{\partial V_{20}}{\partial m}\right)^2 u^2(m) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial t}\right)^2 u^2(t) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial \rho_w}\right)^2 u^2(\rho_w) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial \rho_A}\right)^2 u^2(\rho_A) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial \gamma}\right)^2 u^2(\gamma) + u^2(\partial V_{men}) + u^2(\partial V_{rep})}$$

(47)

#### 4.1.8.5 Tính ĐKĐBĐ mở rộng

$$U = k.u(V_0) \quad (\text{mL}) \quad (48)$$

Với  $k$  là hệ số phủ, thông thường sử dụng hệ số phủ  $k=2$  với mức độ tin cậy xấp xỉ 95%.

### 4.2. Nhận định kết quả

- Tùy theo yêu cầu của khách hàng có thể công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn.

- Đối với khách hàng không có yêu cầu cụ thể về cách đánh giá kết quả hiệu chuẩn thì sử dụng kết quả tính toán sai số ngẫu nhiên và sai số hệ thống để so sánh với các tiêu chuẩn hiện hành.

### 4.3. Trả kết quả

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Phụ lục 1: Sai số cho phép lớn nhất của bình định mức cỡ rộng  
(Theo ĐLVN 68:2001)

Dung tích đo	Sai số cho phép lớn nhất (MPE), mL	
	Cấp A	Cấp B
5	0,04	0,08
10	0,04	0,08
20	0,06	0,12
25	0,06	0,12

50	0,1	0,2
1000	0,6	1,2

Phụ lục 2. Sai số cho phép lớn nhất của bình định mức cổ hẹp (Theo ĐLVN 68:2001)

Dung tích đo, mL	Sai số cho phép lớn nhất (MPE), mL	
	Cấp A	Cấp B
1	0,025	0,050
2	0,025	0,050
5	0,025	0,050
10	0,025	0,050
20	0,040	0,080
25	0,040	0,080
50	0,060	0,120
100	0,100	0,200

Phụ lục 3. Sai số cho phép lớn nhất của buret (Theo ĐLVN 68:2001)

Dung tích đo, mL	Giá trị chia độ nhỏ nhất	Sai số cho phép lớn nhất (MPE), mL	
		Cấp A	Cấp B
1	0,01	0,01	0,02
2	0,01	0,01	0,02
5	0,02	0,01	0,02
10	0,02	0,02	0,05
10	0,05	0,02	0,05
25	0,05	0,03	0,05
25	0,1	0,05	0,10
50	0,1	0,05	0,10

*Handwritten signatures and initials.*

100	0,2	0,10	0,02
-----	-----	------	------

Phụ lục 4. Sai số cho phép lớn nhất của pipét 1 mức (Theo ĐLVN 68:2001)

Dung tích đo, mL	Giới hạn sai số cho phép lớn nhất (MPE), mL	
	Cấp A	Cấp B
0,5	0,005	0,01
1	0,008	0,015
2	0,01	0,02
5	0,015	0,03
10	0,02	0,04
20	0,03	0,06
25	0,03	0,06
50	0,05	0,1
100	0,08	0,15
200	0,1	0,2

Phụ lục 5: Sai số cho phép lớn nhất của pipét chia độ (Theo ĐLVN 68:2001)

Dung tích đo, mL	Giá trị chia độ nhỏ nhất	Sai số cho phép lớn nhất (MPE), mL	
		Cấp A	Cấp B
0,5	0,01	0,005	-
1	0,01	0,006	0,01
2	0,02	0,01	0,02
5	0,05	0,03	0,05
10	0,1	0,05	0,1
25	0,1	0,1	-
25	0,2	0,2	0,2



50	0,1	0,05	0,10
100	0,2	0,10	0,20

Phụ lục 6. Sai số cho phép lớn nhất của ống đong chia độ  
(Theo ĐLVN 68:2001)

Dung tích đo	Sai số cho phép lớn nhất (MPE)
5	0,1
10	0,2
25	0,5
50	1
100	1

Phụ lục 7. Sai số cho phép lớn nhất của cốc đong có miệng rót  
(Theo ĐLVN 68:2001)

Dung tích đo, mL	Sai số cho phép lớn nhất (MPE)
5	1,0
10	1,0
25	1,0
50	2,5
100	5,0

*Handwritten signatures*

Phụ lục 8: Độ không đảm bảo đo của khối lượng riêng quả cân chuẩn (Theo OIML R 111-1)

Alloy/material	Assumed density	Uncertainty ( $k = 2$ )
Platinum	21 400 kg m <sup>-3</sup>	± 150 kg m <sup>-3</sup>
Nickel silver	8 600 kg m <sup>-3</sup>	± 170 kg m <sup>-3</sup>
Brass	8 400 kg m <sup>-3</sup>	± 170 kg m <sup>-3</sup>
Stainless steel	7 950 kg m <sup>-3</sup>	± 140 kg m <sup>-3</sup>
Carbon steel	7 700 kg m <sup>-3</sup>	± 200 kg m <sup>-3</sup>
Iron	7 800 kg m <sup>-3</sup>	± 200 kg m <sup>-3</sup>
Cast iron (white)	7 700 kg m <sup>-3</sup>	± 400 kg m <sup>-3</sup>
Cast iron (grey)	7 100 kg m <sup>-3</sup>	± 600 kg m <sup>-3</sup>
Aluminum	2 700 kg m <sup>-3</sup>	± 130 kg m <sup>-3</sup>

Phụ lục 9: Đường kính trong của cổ đối với bình định mức cổ hẹp (Theo ĐLVN 68:2001)

Dung tích danh định	Kích thước bắt buộc		Độ lệch		Kích thước khuyến nghị					
	Đường kính trong của cổ, $d_1$	Khoảng cách tối thiểu của vạch dấu <sup>1)</sup> , $h_2$	Sai số cho phép lớn nhất		Chiều cao tổng <sup>2)</sup> , $h_1 \pm \delta$	Đường kính đoạn phình (khoảng) $d_2$	Đường kính đáy tối thiểu, $d_3$	Độ dày thành tối thiểu, $s$	Độ côn của nút đáy	
			Cấp A	Cấp B					k4	k6
mL	mm	mm	mL		mm					
1	7±1	5	± 0,025	± 0,050	65	13	13	0,7	7/11	7/16
2	7±1	5	± 0,025	± 0,050	70	17	15	0,7	7/11	7/16
5	7±1	5	± 0,025	± 0,050	70	22	15	0,7	7/11	7/16
10	7±1	5	± 0,025	± 0,050	90	27	18	0,7	7/11	7/16
20	9±1	5	± 0,040	± 0,080	110	39	18	0,7	10/13	10/19
25	9±1	5	± 0,040	± 0,080	110	40	25	0,7	10/13	10/19
50	11±1	10	± 0,060	± 0,120	140	50	35	0,7	12/14	12/21
100	13±1	10	± 0,100	± 0,200	170	60	40	0,7	12/14 <sup>3)</sup>	12/21 <sup>3)</sup>
200	15,5±1,5	10	± 0,150	± 0,300	210	75	50	0,8	14/15	14/23
250	15,5±1,5	10	± 0,150	± 0,300	220	80	55	0,8	14/15	14/23
500	19±2	15	± 0,250	± 0,500	260	100	70	0,8	19/17	19/26
1000	23±2	15	± 0,400	± 0,800	300	125	85	1,0	24/20	24/29
2000	27,5±2,5	15	± 0,600	± 1,200	370	160	110	1,2	29/22	29/32
5000	38±3	15	± 1,200	± 2,400	475	215	165	1,2	34/23	34/35

1) Khoảng cách tối thiểu của vạch dấu tại điểm thay đổi đường kính bất kỳ.  
2) Chiều cao tổng không có nút theo hình 1.  
3) Độ côn thay thế 14/15 và 14/23.

Phụ lục 10: Đường kính trong của cổ đối với bình định mức cổ rộng (Theo DLVN 68:2001)

Dung tích danh định	Kích thước bắt buộc		Độ lệch		Kích thước khuyến nghị				Độ côn của nút đáy	
	Đường kính trong của cổ, $d_1$	Khoảng cách tối thiểu của vạch dấu <sup>1)</sup> , $h_2$	Sai số cho phép lớn nhất		Chiều cao tổng <sup>2)</sup> $h_1 \pm 5$	Đường kính đoạn phình (khoảng) $d_2$	Đường kính đáy tối thiểu, $d_3$	Độ dày thành tối thiểu, $s$	k4	k6
			Cấp A	Cấp B						
mL	mm	mm	mL		mm					
5	9±1	5	± 0,040	± 0,080	70	22	15	0,7	10/13	10/19
10	8±1	5	± 0,040	± 0,080	90	27	18	0,7	10/13	10/19
20	11±1	5	± 0,060	± 0,120	105	39	18	0,7	12/14	12/21
25	11±1	5	± 0,060	± 0,120	110	40	25	0,7	12/14	12/21
50	13±1	10	± 0,100	± 0,200	140	50	35	0,7	14/15	14/23
1000	27,5±2,5	15	± 0,600	± 1,200	300	125	85	1,0	29/22	29/32

1) Khoảng cách tối thiểu của vạch dấu tại điểm thay đổi đường kính bất kỳ.  
2) Chiều cao tổng không có nút theo hình 1.

Phụ lục 11: Đường kính trong tại các vạch dấu của pipet một mức (Theo DLVN 68:2001)

Đơn vị tính: mm

Các kích thước		Dung tích danh định, mL									
		0,5	1	2	5	10	20	25	50	100	200
Tổng chiều dài	max										
- Pipet thẳng		280	280	280	-	-	-	-	-	-	-
- Pipet có đoạn phình		-	325	350	410	450	520	530	550	600	650
Chiều dài ống hút <sup>1)</sup>	min	-	150	150	150	160	170	170	170	170	170
Chiều dài ống xả <sup>1)</sup>	min	-	110	125	145	160	210	220	230	240	240
Đường kính trong tại vạch dấu <sup>2)</sup>	max	2,3 <sup>3)</sup>	3	3,5	4	4,5	5,5	5,5	6	7,5	8,5
Đường kính ngoài ống xả <sup>1)</sup>	± 1 mm	-	5	5,5	6,5	6,5	7	7	7,5	8	9
Đường kính đoạn phình <sup>1)</sup>	max	-	9	9	12	16	22	24	30	38	49
Đường kính ống, pipet thẳng	max	5	6	7	-	-	-	-	-	-	-

*Handwritten signatures and initials.*



Phụ lục 12: Khối lượng riêng của nước, kg/m<sup>3</sup>; đơn vị nhiệt độ: °C (Theo ĐLVN 68:2001)

t	+ 0,0	+ 0,1	+ 0,2	+ 0,3	+ 0,4	+ 0,5	+ 0,6	+ 0,7	+ 0,8	+ 0,9
15	999,099	999,084	999,069	999,053	999,038	999,022	999,006	998,991	998,975	998,959
16	998,942	998,926	998,910	998,893	998,876	998,860	998,843	998,826	998,809	998,792
17	998,774	998,757	998,739	998,722	998,704	998,686	998,668	998,650	998,632	998,613
18	998,595	998,576	998,558	998,539	998,520	998,501	998,482	998,463	998,443	998,424
19	998,404	998,385	998,365	998,345	998,325	998,305	998,285	998,265	998,244	998,224
20	998,203	998,182	998,162	998,141	998,120	998,099	998,077	998,056	998,035	998,013
21	997,991	997,970	997,948	997,926	997,904	997,882	997,859	997,837	997,815	997,792
22	997,769	997,747	997,724	997,701	997,678	997,654	997,631	997,608	997,584	997,561
23	997,537	997,513	997,490	997,466	997,442	997,417	997,393	997,369	997,344	997,320
24	997,295	997,270	997,246	997,221	997,196	997,170	997,145	997,120	997,094	997,069
25	997,043	997,018	996,992	996,966	996,940	996,914	996,888	996,861	996,835	996,809
26	996,782	996,755	996,729	996,702	996,675	996,648	996,621	996,594	996,566	996,539
27	996,511	996,484	996,456	996,428	996,401	996,373	996,345	996,316	996,288	996,260
28	996,232	996,203	996,174	996,146	996,117	996,088	996,059	996,030	996,001	995,972
29	995,943	995,913	995,884	995,854	995,825	995,795	995,765	995,735	995,705	995,675
30	995,645									

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm).

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng.

- Thời gian đặt mẫu để ổn định nhiệt độ, độ ẩm chưa đủ 2 giờ. Cần chờ đủ thời gian.

- Cân điện tử chưa được sấy máy trước 30 phút. Cần chờ đủ thời gian.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhiệt độ nước cất thay đổi vượt quá 0,2°C trong quá trình thực hiện. Chờ nhiệt

độ nước cất ổn định và tiến hành thực hiện hiệu chuẩn lại.

- Nhiệt độ môi trường thay đổi vượt quá 1°C trong 1 giờ. Điều chỉnh hệ thống điều hòa, chờ nhiệt độ môi trường ổn định mới được tiến hành thực hiện hiệu chuẩn lại.

- Chênh lệch nhiệt độ của nước cất và môi trường vượt quá 1°C. Điều chỉnh hệ thống điều hòa, chờ nhiệt độ môi trường và nước cất ổn định mới được tiến hành thực hiện hiệu chuẩn lại.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả.

- Áp dụng sai mức đánh giá. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm

Không áp dụng.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- ĐLVN 59: 2000. Chuẩn dung tích bằng thủy tinh – Quy trình kiểm định.

- ĐLVN 68: 2001. Phương tiện đo dung tích thí nghiệm bằng thủy tinh – Quy trình kiểm định.

- TCVN 1044:2011. Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – dụng cụ đo thể tích – phương pháp xác định dung tích và sử dụng.

- TCVN 7150:2007. Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – pipet chia độ.

- TCVN 7149:2007. Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – buret chia độ.

- TCVN 7151:2010. Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – pipet một mức.

- TCVN 7153:2002. Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Bình định mức.

- ASTM E542-01. Standard practice for calibration of laboratory volumetric apparatus.

- Josephine Lembeck, 1978. The calibration of small volumetric laboratory glassware. *NBSIR* 74-461.

- Euramet cg-19. Guidelines on the determination of uncertainty in gravimetric volume calibration. Verison 2.1 (03/2012).

- ISO/TR 20416, 2000 E. Determination of uncertainty for volume measurements made using the gravimetric method. First edition.



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 283:****HIỆU CHUẨN TỬ NHIỆT ẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP SO SÁNH  
VÀ NHIỆT ĐỘ ĐIỂM SƯƠNG****1. ĐẠI CƯƠNG****1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn hiệu chuẩn Tử nhiệt ẩm (Tử môi trường).

**1.2. Định nghĩa****1.2.1. Định nghĩa**

- Ổn định nhiệt độ: nhiệt độ mà tại đó tất cả các điểm trong không gian làm việc đã đạt tới và duy trì nhiệt độ đặt trong khoảng dung sai đã cho.

- Độ đồng đều nhiệt độ: Chênh lệch lớn nhất về giá trị trung bình đo nhiệt độ, sau khi ổn định, tại thời điểm bất kỳ giữa 2 điểm riêng biệt trong không gian làm việc.

- Ổn định độ ẩm: độ ẩm mà tại đó tất cả các điểm trong không gian làm việc đã đạt tới và duy trì độ ẩm cài đặt trong khoảng dung sai đã cho.

- Độ đồng đều độ ẩm: Chênh lệch lớn nhất về giá trị trung bình đo độ ẩm, sau khi ổn định, tại thời điểm bất kỳ giữa 2 điểm riêng biệt trong không gian làm việc.

- Độ không đảm bảo đo: là thông số gắn liền với kết quả đo, đặc trưng cho sự phân tán của các giá trị có thể quy cho đại lượng đo một cách hợp lý.

**1.2.2. Từ viết tắt**

KĐBD: Không đảm bảo đo

**1.3. Nguyên lý**

- Hiệu chuẩn nhiệt độ bằng cách so sánh giá trị chỉ thị nhiệt độ của tử nhiệt ẩm và giá trị nhiệt độ đo được thông qua bộ đo nhiệt độ chuẩn.

- Hiệu chuẩn độ ẩm bằng cách so sánh giá trị chỉ thị của tử nhiệt ẩm với giá trị độ ẩm có được thông qua chuẩn nhiệt độ điểm sương và giá trị nhiệt độ của bộ đo nhiệt độ chuẩn.

**2. CHUẨN BỊ****2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Hiệu chuẩn: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán và phiên giải kết quả: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.



- Xem xét và phê duyệt: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

## 2.2. Vật tư

### 2.2.3. Sinh phẩm, hoá chất

- Còn 70%

### 2.2.4. Vật tư tiêu hao

- Đầu dò nhiệt độ thay thế.
- Khẩu trang y tế
- Găng tay y tế
- Giấy thấm.
- Giấy chứng nhận hiệu chuẩn
- Văn phòng phẩm: bút, giấy A4, tem hiệu chuẩn

## 2.3. Thiết bị

- Bộ chuẩn đo nhiệt độ  $\geq 9$  kênh.
- Cảm biến nhiệt ẩm chuẩn
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm môi trường

## 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

### 2.4.4. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Dùng giấy thấm sạch vệ sinh toàn bộ máy.

### 2.4.2 Kiểm tra bên ngoài

- Xem xét và ghi các thông tin về tên, nhãn hiệu, kiểu loại, số hiệu, chỉ thị nhiệt độ, độ ẩm, phạm vi hoạt động, độ phân giải của Tủ nhiệt ẩm.

### 2.4.3. Kiểm tra kỹ thuật

- Kiểm tra trạng thái hoạt động bình thường của các thiết bị theo hướng dẫn sử dụng được nêu trong tài liệu kỹ thuật kèm theo.

- Bộ điều khiển các chức năng của máy phải hoạt động bình thường, các phím bấm, nút vận hành bình thường không bị đơ, cứng. Các số chỉ thị phải rõ nét, không bị mờ hoặc mất nét.

## 2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn

Không áp dụng.

## 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện là 27 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại phòng cơ sở sử dụng thiết bị

### 3. AN TOÀN

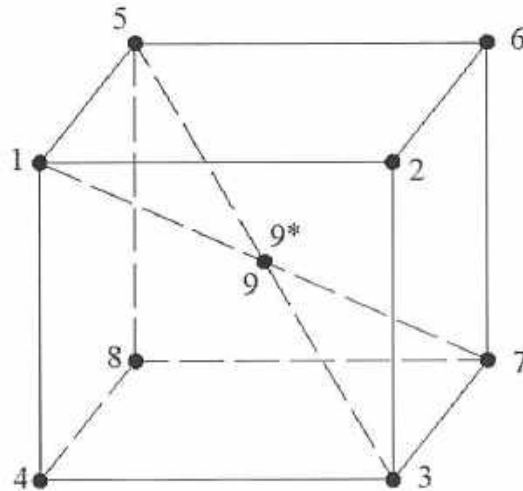
Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 4.1 Các bước thực hiện.

##### 4.1.1. Trình tự tiến hành

- Bố trí, lắp đặt các đầu dò chuẩn đặt cố định, phân phối đều trong không gian tủ, cách các thành tủ 5cm đến 10cm và 2 đầu dò chuẩn (nhiệt độ chuẩn và nhiệt độ điểm sương chuẩn) được đặt cố định tại tâm hình học của tủ.



- Chọn giá trị các điểm nhiệt độ để kiểm tra như sau: 15 °C, 25 °C, 35 °C, 50 °C tại độ ẩm 60 %RH hoặc theo yêu cầu của bên sử dụng tủ.

- Chọn giá trị các điểm độ ẩm để kiểm tra như sau: 30 %RH, 50 %RH, 70 %RH và 90 %RH tại nhiệt độ 25 °C hoặc theo yêu cầu của bên sử dụng tủ.

- Tiến hành ghi giá trị nhiệt độ, độ ẩm trên bộ chỉ thị của Tủ nhiệt ẩm khi chỉ số giá trị nhiệt độ, độ ẩm trên chỉ thị ổn định vào biên bản, đồng thời cài đặt để các thiết bị đo, ghi nhiệt độ chuẩn và nhiệt độ điểm sương chuẩn bắt đầu ghi nhiệt độ thực tế trong tủ. Thời gian ghi là 1 phút/lần. Thời gian ghi ít nhất 30 phút từ khi thiết bị hoạt động ổn định.

- Tiến hành đo các điểm nhiệt độ và độ ẩm tiếp theo.

- Sau khi kết thúc, kết nối các bộ đo, ghi nhiệt độ với máy tính để lấy các dữ liệu nhiệt độ ghi được.

##### 4.1.2 Xử lý kết quả hiệu chuẩn

###### 4.1.2.1 Nhiệt độ

- Xác định số hiệu chính của chỉ thị nhiệt độ của thiết bị bị kiểm

Số hiệu chính tại từng điểm hiệu chuẩn nhiệt độ được tính bằng hiệu giữa giá trị trung bình nhiệt độ thực của thiết bị chuẩn và giá trị trung bình nhiệt độ chỉ thị trên thiết bị cần hiệu chuẩn.

$$SHC = \overline{T_{thuc}} - \overline{T_{trungbinh}}$$

Trong đó:

SHC: số hiệu chính tại nhiệt độ kiểm tra

$\overline{T_{Trungbinh}}$ : Giá trị nhiệt độ trung bình của thiết bị cần hiệu chuẩn tại nhiệt độ kiểm tra.

$\overline{T_{thuc}}$ : Nhiệt độ trung bình của thiết bị chuẩn tại nhiệt độ kiểm tra, được tính theo công thức:

$$\overline{T_{thuc}} = \frac{\sum T_{thuc1} + \dots + T_{thuc-k}}{k}$$

Với:  $T_{thuc1} = (\overline{T_{do1}} + \beta T_1); \dots; T_{thuc-k} = (\overline{T_{do-k}} + \beta T_k)$

Trong đó:

$T_{thuc1-k}$ : Nhiệt độ thực đo của thiết bị tại các vị trí từ 1-k.

$\overline{T_{do1-k}}$ : Nhiệt độ trung bình của các đầu đo nhiệt chuẩn tại các vị trí từ 1-k.

$\beta T_{1-k}$ : Số hiệu chính nhiệt độ tại các đầu đo từ 1-k của thiết bị chuẩn, lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn.

k: số đầu dò nhiệt độ chuẩn sử dụng hiệu chuẩn Tủ nhiệt ẩm.

- Độ ổn định nhiệt độ

+ Tính độ lệch nhiệt độ của từng điểm đo:

$$\circ T_{cl} = T_{i-max} - T_{i-min}$$

Trong đó:  $T_{cl}$  là độ lệch nhiệt độ của điểm đo thứ i (i=1-k)

$T_{i-max}$ : là nhiệt độ lớn nhất đo được tại điểm thứ i.

$T_{i-min}$ : là nhiệt độ nhỏ nhất đo được tại vị trí thứ i.

$$+ \text{Độ ổn định nhiệt độ } \Delta T_{\text{ổđ}} = \pm \frac{T_{cl-max}}{2}$$

- Độ đồng đều nhiệt độ

+ Tính nhiệt độ trung bình ( $X_{TB}$ ) tại từng điểm trong k điểm đo.

+ Tìm giá trị lớn nhất ( $X_{TB-Max}$ ) và giá trị nhỏ nhất ( $X_{TB-Min}$ ) trong k điểm nhiệt độ trung bình tìm được.

$$+ \text{Độ đồng đều nhiệt độ: } \Delta T_{\text{đđ}} = \pm \frac{X_{TB-Max} - X_{TB-Min}}{2}$$

#### 4.1.2.2 Độ ẩm

- Áp suất hơi nước bão hòa nhiệt độ trên 0 °C được tính như sau (theo công thức Sonntag):

$$swvp = e^{\left(-\frac{6096.9385}{T} + 21.2409642 - 2.711193 \times 10^{-2} T + 1.673952 \times 10^{-5} T^2 + 2.433502 \ln T\right)}$$

$$wvp = e^{\left(-\frac{6096.9385}{T_d} + 21.2409642 - 2.711193 \times 10^{-2} T_d + 1.673952 \times 10^{-5} T_d^2 + 2.433502 \ln T_d\right)}$$

- Áp suất hơi nước bão hòa nhiệt độ  $\leq 0$  °C được tính như sau (theo công thức Sonntag):



$$swvp = e^{\left(-\frac{6024.5282}{T} + 29.32707 + 1.0613868 \times 10^{-2} T - 1.3198825 \times 10^{-5} T^2 - 0.49382577 \ln T\right)}$$

$$wvp = e^{\left(-\frac{6024.5282}{T_d} + 29.32707 + 1.0613868 \times 10^{-2} T_d - 1.3198825 \times 10^{-5} T_d^2 - 0.49382577 \ln T_d\right)}$$

Với T: nhiệt độ tuyệt đối của không khí, gas....  $T = t + 273.15$

$T_d$ : nhiệt độ điểm sương tuyệt đối:  $T_d = t_d + 273.15$

Độ ẩm tương đối RH% được tính như sau:

$$\%RH = \frac{wvp}{swvp} \times 100$$

- Số hiệu chính của chỉ thị độ ẩm:

Số hiệu chính tại từng điểm hiệu chuẩn độ ẩm được tính bằng hiệu giữa giá trị trung bình độ ẩm thực của thiết bị chuẩn và giá trị trung bình độ ẩm chỉ thị trên thiết bị cần hiệu chuẩn.

$$SHC_{RH} = \overline{RH_{thuc}} - \overline{RH_{trungbinh}}$$

Trong đó:

SHC: số hiệu chính tại độ ẩm kiểm tra

$\overline{RH_{Trungbinh}}$ : Giá trị độ ẩm trung bình của thiết bị cần hiệu chuẩn tại điểm ẩm kiểm tra.

$\overline{RH_{thuc}}$ : Giá trị độ ẩm trung bình của thiết bị chuẩn tại nhiệt độ kiểm tra, được tính theo công thức:

$$\overline{RH_{thuc}} = \frac{\sum RH_{thuc1} + \dots + RH_{thuc-k}}{k}$$

Trong đó:

$RH_{thuc1-k}$ : Độ ẩm thực được chuyển đổi từ nhiệt độ điểm sương chuẩn với các cảm biến nhiệt độ chuẩn tại các vị trí từ 1-k.

- Độ ổn định độ ẩm:

+ Tính độ lệch độ ẩm của từng điểm đo:

$$\circ \quad RH_{cl} = RH_{i-max} - RH_{i-min}$$

Trong đó:  $RH_{cl}$  là độ lệch độ ẩm của điểm đo thứ i ( $i=1-k$ )

$RH_{i-max}$ : là độ ẩm lớn nhất được chuyển đổi từ nhiệt độ điểm sương và nhiệt độ đo được tại điểm thứ i.

$RH_{i-min}$ : là độ ẩm nhỏ nhất được chuyển đổi từ nhiệt độ điểm sương và nhiệt độ đo được tại vị trí thứ i.

$$+ \text{ Độ ổn định độ ẩm} \quad \Delta RH_{\delta d} = \pm \frac{RH_{cl-max}}{2}$$

- Độ đồng đều độ ẩm

+ Tính độ ẩm trung bình ( $RH_{TB}$ ) tại từng vị trí trong k điểm đo.

+ Tìm giá trị lớn nhất ( $RH_{TB-Max}$ ) và giá trị nhỏ nhất ( $RH_{TB-Min}$ ) trong k điểm đo trung bình tìm được.

$$+ \text{Độ đồng đều độ ẩm: } \Delta RH_{dd} = \pm \left( \frac{RH_{TB-Max} - RH_{TB-Min}}{2} \right)$$

- Tính sai lệch độ ẩm

Tính sai lệch độ ẩm do sai số của cảm biến nhiệt độ chuẩn và cảm biến nhiệt độ điểm sương chuẩn gây ra tại nhiệt độ khảo sát:  $\Delta RH_{SS}$

#### 4.1.3 Ước lượng độ không đảm bảo đo

- Độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ) của phép hiệu chuẩn từ nhiệt ẩm được tính toán từ các sai số ảnh hưởng đến các phép đo nhiệt độ và độ ẩm khi hiệu chuẩn.

- ĐKĐBĐ được tính cho từng điểm đo với mức tin cậy  $P = 95\%$  và hệ số phủ  $k=2$ .

##### 4.1.3.1 Nhiệt độ

- Từ thiết bị chuẩn

+  $u_{ch1}$  xác định theo giấy chứng nhận hiệu chuẩn của thiết bị chuẩn:

$$u_{ch1-t} = \frac{\max U_{ch,i}}{2}$$

Với  $U_{ch,i}$  là ĐKĐBĐ mở rộng của đầu đo nhiệt độ chuẩn thứ  $i$ ,  $i=1-k$

+  $u_{ch2}$  tính theo ĐKĐBĐ loại A của thiết bị đo nhiệt độ chuẩn ( $k$  đầu đo).

$$u_{ch2-t} = \sqrt{u^2_1 + \dots + u^2_k}$$

$$\text{Trong đó } u_i (i=1-k) = \frac{Si}{\sqrt{n}}$$

Với  $Si$  là độ lệch chuẩn tại đầu đo thứ  $i$  ( $i=1-k$ ), và được xác định theo công thức:

$$Si = \sqrt{\frac{\sum (t_i - t_{tb})^2}{n-1}}$$

$n$  là số lần lấy dữ liệu tại mỗi điểm kiểm tra.

+ Độ không đảm bảo đo chuẩn liên hợp của thiết bị chuẩn:

$$u_{ch-t} = \sqrt{u^2_{ch1-t} + u^2_{ch2-t}}$$

- Từ thiết bị bị kiểm

+ Độ không đảm bảo đo tính theo độ đồng đều:

$$u_{tb1-t} = \frac{\sqrt{(\Delta T_{dd})^2 + u^2_{ch1-t}}}{\sqrt{3}}$$

+ Độ không đảm bảo đo tính theo độ ổn định:

$$u_{tb2-t} = \frac{\Delta T_{od}}{\sqrt{3}}$$

+ Độ không đảm bảo đo tính theo độ phân giải  $d$ :

$$u_{tb3-t} = \frac{d}{2 \times \sqrt{3}}$$

Với  $d$  là độ phân giải nhiệt độ của chỉ thị nhiệt độ của Tủ nhiệt ẩm.

+ Độ không đảm bảo đo tính theo độ tản mạn của chỉ thị:

$$u_{tb4-t} = \frac{S_{tb4}}{2 \times \sqrt{3}}$$

Với:

$$S_{tb4} = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (t_j - t_{tb})^2}{n - 1}}$$

Trong đó n là số lần đọc nhiệt độ từ chỉ thị của thiết bị

+ Độ không đảm bảo đo chuẩn liên hợp của tử nhiệt:

$$u_{tb-t} = \sqrt{u_{tb1-t}^2 + u_{tb2-t}^2 + u_{tb3-t}^2 + u_{tb4-t}^2}$$

- Độ KĐBĐ liên hợp

$$u_{hc-t} = \sqrt{u_{ch-t}^2 + u_{tb-t}^2}$$

- Độ KĐBĐ mở rộng

Độ không đảm bảo đo mở rộng với mức tin cậy 95%, hệ số phủ k=2.

$$U_t = 2 \times u_{hc-t}$$

#### 4.1.3.2 Độ ẩm

- Từ thiết bị chuẩn

+ Độ ẩm tại áp suất hơi nước bão hòa được tính như sau (Công thức Sonntag):

$$\%RH = \frac{e^{f(T_d)}}{e^{f(T)}} \times 100$$

Trong đó:

$$f(T_d) = \frac{a}{T_d} + b + c * T_d + d * T_d^2 + e * \ln T_d$$

$$f(T) = \frac{a}{T} + b + c * T + d * T^2 + e * \ln T$$

Với nhiệt độ trên 0 °C	Với nhiệt độ ≤ 0 °C:
a = -6096.9385	a = -6024.5282
b = 21.2409642	b = 29.32707
c = - 2.711193 x 10 <sup>-2</sup>	c = 1.0613868 x 10 <sup>-2</sup>
d = 1.673952x10 <sup>-5</sup>	d = -1.3198825 x 10 <sup>-5</sup>
e = 2.433502	e = -0.49382577

Ta có:



$$u_{ch1}^2(RH) = (c_{Td}^2 u^2(Td) + c_T^2 u^2(T)) \times 100^2$$

$$c_{Td} = \frac{\partial(RH)}{\partial(Td)} = \frac{e^{f(Td)}}{e^{f(T)}} f'(Td)$$

$$c_T = \frac{\partial(RH)}{\partial(T)} = e^{f(Td)} \left( \frac{1}{e^{f(T)}} \right)' = e^{f(Td)} \left( -\frac{1}{(e^{f(T)})^2} \right) e^{f(T)} f'(T) = -\frac{e^{f(Td)}}{e^{f(T)}} f'(T)$$

Do đó:

$$u_{ch1}^2(RH) = \left( \left( \frac{e^{f(Td)}}{e^{f(T)}} f'(Td) \right)^2 u^2(Td) + \left( -\frac{e^{f(Td)}}{e^{f(T)}} f'(T) \right)^2 u^2(T) \right) \times 100^2$$

$$u_{ch1}(RH) = \left( \sqrt{\left( \frac{e^{f(Td)}}{e^{f(T)}} f'(Td) \right)^2 u^2(Td) + \left( -\frac{e^{f(Td)}}{e^{f(T)}} f'(T) \right)^2 u^2(T)} \right) * 100$$

Với

$$u(Td) = \sqrt{u_{td}^2 + \frac{s^2}{n}} : \text{độ không đảm bảo đo do cảm biến nhiệt độ điểm sương.}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum(t_d - t_{dtb})^2}{n-1}}$$

$u_{td}$  : độ không đảm bảo đo của cảm biến nhiệt độ điểm sương lấy trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn

$u(T)$ : độ không đảm bảo đo của bộ đo ghi nhiệt độ chuẩn lấy trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn

$$f'(T) = -\frac{a}{T^2} + c + 2 * d * T + \frac{e}{T}$$

$$f'(Td) = -\frac{a}{T_d^2} + c + 2 * d * T_d + \frac{e}{T_d}$$

-  $u_{ch2}$  tính theo ĐKĐĐĐ loại A của thiết bị đo nhiệt độ chuẩn chuyển sang độ ẩm dựa theo nhiệt độ điểm sương (9 đầu đo).

$$u_{ch2}(RH) = \sqrt{u_1^2 + \dots + u_k^2}$$

$$\text{Trong đó } u_{i(i=1-k)} = \frac{Si}{\sqrt{n}}$$

Với  $Si$  là độ lệch chuẩn tại đầu đo thứ  $i$  ( $i=1-k$ ), và được xác định theo công thức:

$$Si = \sqrt{\frac{\sum(t_i - t_{tb})^2}{n-1}}$$

$n$  là số lần lấy dữ liệu tại mỗi điểm kiểm tra.

+ Độ không đảm bảo đo chuẩn liên hợp của thiết bị chuẩn:

*Handwritten signatures and marks.*

$$u_{ch}(RH) = \sqrt{u_{ch1}^2(RH) + u_{ch2}^2(RH)}$$

- Từ thiết bị bị kiểm

+ Độ không đảm bảo đo tính theo độ đồng đều:

$$u_{tb1-RH} = \frac{\sqrt{SQRT(\Delta RH_{\text{đđ}}^2 + u_{ch1}(RH)^2 + (\Delta RH_{\text{ss}}/2)^2)}}{\sqrt{3}}$$

+ Độ không đảm bảo đo tính theo độ ổn định:

$$u_{tb2-RH} = \frac{\Delta RH_{\text{ổđ}}}{\sqrt{3}}$$

+ Độ không đảm bảo đo tính theo độ phân giải d(RH):

$$u_{tb3-RH} = \frac{d(RH)}{2 \times \sqrt{3}}$$

Với d là độ phân giải độ ẩm của chỉ thị Tủ nhiệt ẩm.

+ Độ không đảm bảo đo tính theo độ tản mạn của chỉ thị:

$$u_{tb4-RH} = \frac{S_{tb4}}{2 \times \sqrt{3}}$$

Với:

$$S_{tb4} = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (t_j - t_{tb})^2}{n - 1}}$$

Trong đó n là số lần đọc nhiệt độ từ chỉ thị của thiết bị

+ Độ không đảm bảo đo chuẩn liên hợp của tủ nhiệt:

$$u_{tb-RH} = \sqrt{u_{tb1-RH}^2 + u_{tb2-RH}^2 + u_{tb3-RH}^2 + u_{tb4-RH}^2}$$

- Độ KĐBĐ liên hợp

$$u_{hc-RH} = \sqrt{u_{ch-RH}^2 + u_{tb-RH}^2}$$

- Độ KĐBĐ mở rộng

Độ không đảm bảo đo mở rộng với mức tin cậy 95%, hệ số phủ k=2.

$$U_t = 2 \times u_{hc-RH}$$

#### 4.1.4 Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được vệ sinh sạch sẽ.

### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

#### 4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

##### 4.3.1 Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.

- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác

trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.

- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Không áp dụng

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm).

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.4. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng.

#### 5.5. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Ghi chép sai thông số và kết quả phép đo.

#### 5.6. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả.
- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Nội kiểm

Không áp dụng.

#### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng một năm/lần.

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- TCVN 7699-3-5:2014. Thử nghiệm môi trường phần 3-5: Tài liệu hỗ trợ và hướng dẫn – xác nhận tính năng của tủ nhiệt độ.
- ASTM D 5374-1993 (Reapproved 2005). Standard test method for forced convection laboratory ovens for evaluation of electrical insulation.
- Estimation method for temperature uncertainty of temperature chambers (JTM K 08), 2008. Espec Technology Report 26, Espec Corp, Japan.
- IEC 60216-4-1: 2006 (E). Electrical insulating materials – Thermal endurance properties. Part 4-1: Ageing ovens – single chamber ovens.
- IS 9001 (Part 20): 2010/IEC 60068-3-11:2007: Indian standard – Guidance for



environmental testing – Part 20: Calculation of uncertainty of conditions in climatic test chambers.

- New JTM standards for temperature test chambers (2007) – Methods of testing and indicating performance. Espec Technology Report 24, Espec Corp, Japan.

- Humidity – Part 1: Terms, definitions and formulae - BS 1339-1:2002, trang 15.

- Guidelines DKD-R 5-7 Calibration of Climatic chambers

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 284:**  
**HIỆU CHUẨN THIẾT BỊ ÔN NHIỆT KHÔ**  
**BẰNG PHƯƠNG PHÁP SO SÁNH VỚI ĐẦU DÒ NHIỆT CHUẨN**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

- Hướng dẫn này áp dụng để hiệu chuẩn nhiệt độ của máy ôn nhiệt khô (dry block heater) có để ôn nhiệt dạng giếng, dạng phẳng trong phạm vi nhiệt độ từ 30-180 °C như máy ủ elisa, máy ủ nhiệt khô, máy phá mẫu, ....

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Định nghĩa**

- Nhiệt độ cài đặt: nhiệt độ mong muốn được thiết lập bởi các kiểm soát của thiết bị.

- Ôn định nhiệt độ: nhiệt độ mà tại đó tất cả các điểm trong không gian làm việc đã đạt tới và duy trì nhiệt độ đặt trong khoảng dung sai đã cho.

- Độ đồng đều nhiệt độ: Chênh lệch lớn nhất về giá trị trung bình đo nhiệt độ, sau khi ổn định, tại thời điểm bất kỳ giữa 2 điểm riêng biệt trong không gian làm việc.

- Độ không đảm bảo đo: là thông số gắn liền với kết quả đo, đặc trưng cho sự phân tán của các giá trị có thể quy cho đại lượng đo một cách hợp lý.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- KĐBĐ: Không đảm bảo đo

### **1.3. Nguyên lý**

Hiệu chuẩn nhiệt độ bằng cách so sánh giá trị chỉ thị nhiệt độ của thiết bị bị kiểm và giá trị nhiệt độ đo được thông qua bộ đo nhiệt độ chuẩn.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Hiệu chuẩn: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán và phiên giải kết quả: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Xem xét và phê duyệt: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

**2.2. Vật tư****2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

- Cồn 70%

**2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Đầu dò nhiệt độ thay thế
- Khẩu trang y tế
- Găng tay y tế
- Giấy thấm.
- Giấy chứng nhận hiệu chuẩn
- Văn phòng phẩm: bút, giấy A4, tem hiệu chuẩn

**2.3. Thiết bị**

- Bộ chuẩn đo nhiệt độ đa kênh,
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm môi trường.

**2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu****2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận**

- Dùng giấy thấm vệ sinh toàn bộ thiết bị, nếu thiết bị dạng lỗ thì vệ sinh sạch sẽ bên trong lỗ.

**2.4.2. Kiểm tra bên ngoài**

- Ký hiệu, nhãn hiệu ghi trên thiết bị phải rõ ràng, bao gồm: tên, model, số seri, nơi sản xuất, độ phân giải của thiết bị, mã thiết bị hay số nhận dạng, nhiệt độ cài đặt.

**2.4.3. Kiểm tra kỹ thuật**

- Kiểm tra trạng thái hoạt động bình thường của các thiết bị theo hướng dẫn sử dụng được nêu trong tài liệu kỹ thuật kèm theo.

- Bộ điều khiển các chức năng của máy phải hoạt động bình thường, các phím bấm, nút vận hành thường không bị đơ, cứng. Các số chỉ thị phải rõ nét, không bị mờ hoặc mất nét.

**2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn**

Không áp dụng.

**2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Tổng thời gian thực hiện là 05 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

**2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

- Tại phòng cơ sở sử dụng thiết bị.

**3. AN TOÀN**

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.



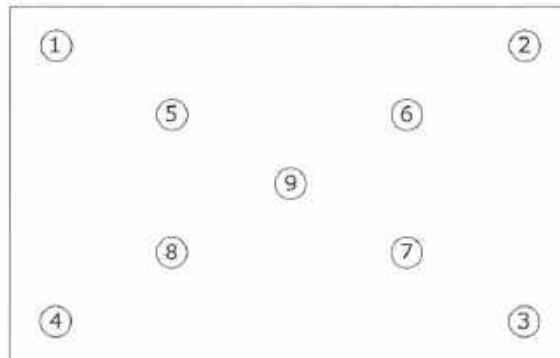
## 4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

Phương pháp kiểm tra nhiệt độ của thiết bị là đo trực tiếp nhiệt độ thực tế bên trong máy bằng thiết bị chuẩn đo ghi nhiệt độ nhiều điểm, các điểm được bố trí bên trong thiết bị căn hiệu chuẩn theo nguyên tắc sau:

- Đối với thiết bị ổn nhiệt có đế nhiệt dạng giếng

Đế nhiệt có số giếng >9:

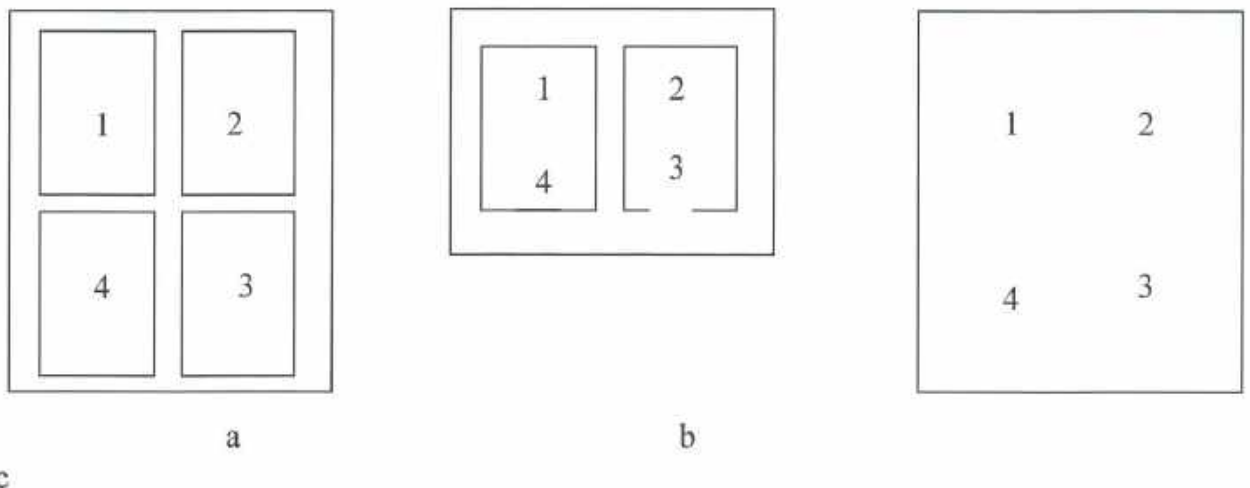


Đế nhiệt có số giếng  $\leq 9$ : bố trí mỗi giếng 1 đầu dò.

- Bật máy hoạt động. Sau khi nhiệt độ của thiết bị ổn định (chỉ số hiển thị bằng với chỉ số cài đặt và không thay đổi), tiến hành ghi giá trị nhiệt độ trên bộ chỉ thị của thiết bị, đồng thời cài đặt để các thiết bị đo, ghi nhiệt độ chuẩn bắt đầu ghi nhiệt độ thực tế trong máy. Thời gian ghi là 5 phút/lần.

Sau khi kết thúc thời gian ghi nhiệt độ, kết nối các bộ đo, ghi nhiệt độ với máy tính để lấy các dữ liệu nhiệt độ ghi được.

\* Đối với thiết bị ổn nhiệt có đế nhiệt phẳng (máy ù elisa):



Hình 1: Các vị trí đặt đầu dò trong máy (a: máy có 4 đế nhiệt trong cùng 1 không gian; b: máy có 2 đế nhiệt, c: máy có 1 đế nhiệt).

- Đặt các đầu đo phân bố đều theo sơ đồ ở hình 1, các đầu đo đặt nằm ngang tiếp xúc trực tiếp với mặt đáy của thiết bị.

- Tiến hành đo như trên.

*Handwritten signatures and marks.*

## 4.1.2. Xử lý kết quả hiệu chuẩn

## a) Xác định số hiệu chính của chỉ thị nhiệt độ của thiết bị bị kiểm

- Số hiệu chính tại từng điểm hiệu chuẩn nhiệt độ được tính bằng hiệu giữa giá trị trung bình nhiệt độ thực của thiết bị chuẩn của các đầu dò đặt dưới đáy giếng và giá trị trung bình nhiệt độ chỉ thị trên thiết bị cần hiệu chuẩn.

$$SHC = \overline{T_{thuc}} - \overline{T_{chithi}}$$

Trong đó:

SHC: số hiệu chính tại nhiệt độ kiểm tra

$\overline{T_{chithi}}$ : Giá trị nhiệt độ trung bình chỉ thị của thiết bị cần hiệu chuẩn tại nhiệt độ kiểm tra.

$\overline{T_{thuc}}$ : Nhiệt độ trung bình của thiết bị chuẩn tại nhiệt độ kiểm tra, được tính theo công thức:

$$\overline{T_{thuc}} = \frac{\sum T_{thuci}}{n}$$

Với:  $T_{thuci} = (\overline{T_{doi}} + \beta T_i)$

Trong đó:

$T_{thuci}$ : Nhiệt độ thực của thiết bị đo tại các vị trí thứ i.

$\overline{T_{doi}}$ : Nhiệt độ trung bình của các đầu đo nhiệt chuẩn tại các vị trí thứ i.

$\beta T_i$ : Số hiệu chính nhiệt độ tại các đầu đo thứ i của thiết bị chuẩn, lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn.

## b) Độ ổn định nhiệt độ

- Tính độ lệch nhiệt độ của từng điểm đo:

$$\circ T_{cl} = T_{i-max} - T_{i-min}$$

Trong đó:  $T_{cl}$  là độ lệch nhiệt độ của điểm đo thứ i ( $i=1-k$ )

$T_{i-max}$ : là nhiệt độ lớn nhất đo được tại điểm thứ i.

$T_{i-min}$ : là nhiệt độ nhỏ nhất đo được tại vị trí thứ i.

- Độ ổn định nhiệt độ  $\Delta T_{\text{od}} = \pm \frac{T_{cl-max}}{2}$

## c) Độ đồng đều nhiệt độ

- Tính nhiệt độ trung bình ( $X_{TB}$ ) tại từng điểm trong k điểm đo.

- Tìm giá trị lớn nhất ( $X_{TB-Max}$ ) và giá trị nhỏ nhất ( $X_{TB-Min}$ ) trong k điểm nhiệt độ trung bình tìm được.

- Độ đồng đều nhiệt độ:  $\Delta T_{\text{dd}} = \pm \frac{X_{TB-Max} - X_{TB-Min}}{2}$

## 4.1.3. Ước lượng độ không đảm bảo đo

- Độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ) của phép hiệu chuẩn từ nhiệt ẩm được tính toán từ các sai số ảnh hưởng đến các phép đo nhiệt độ và độ ẩm khi hiệu chuẩn.

- ĐKĐBĐ được tính cho từng điểm đo với mức tin cậy  $P = 95\%$  và hệ số phủ  $k=2$ .

## a) Từ thiết bị chuẩn

-  $u_{ch1}$  xác định theo giấy chứng nhận hiệu chuẩn của thiết bị chuẩn:

$$u_{ch1-t} = \frac{\max U_{ch,i}}{2}$$

Với  $U_{ch,i}$  là ĐKĐBĐ mở rộng của đầu đo nhiệt độ chuẩn thứ  $i$ ,  $i=1-k$

-  $u_{ch2}$  tính theo ĐKĐBĐ loại A của thiết bị đo nhiệt độ chuẩn ( $k$  đầu đo).

$$u_{ch2-t} = \sqrt{u^2_1 + \dots + u^2_k}$$

$$\text{Trong đó } u_{i(i=1-k)} = \frac{S_i}{\sqrt{n}}$$

Với  $S_i$  là độ lệch chuẩn tại đầu đo thứ  $i$  ( $i=1-k$ ), và được xác định theo công thức:

$$S_i = \sqrt{\frac{\sum(t_i - t_{tb})^2}{n-1}}$$

$n$  là số lần lấy dữ liệu tại mỗi điểm kiểm tra.

- Độ không đảm bảo đo chuẩn liên hợp của thiết bị chuẩn:

$$u_{ch-t} = \sqrt{u^2_{ch1-t} + u^2_{ch2-t}}$$

## b) Từ thiết bị bị kiểm

- Độ không đảm bảo đo tính theo độ đồng đều:

$$u_{tb1} = \frac{\sqrt{u^2_{ch1} + \Delta T_{đđ}^2}}{\sqrt{3}}$$

- Độ không đảm bảo đo tính theo độ ổn định:

$$u_{tb2} = \frac{\Delta T_{ổđ}}{\sqrt{3}}$$

- Độ không đảm bảo đo tính theo độ phân giải  $d$ :

$$u_{tb3} = \frac{d}{2 \times \sqrt{3}}$$

Với  $d$  là độ phân giải của chỉ thị thiết bị.

- Độ không đảm bảo đo tính theo độ tản mạn của chỉ thị:

$$u_{tb4} = \frac{S_{tb4}}{\sqrt{n}}$$

Với:



$$s_{tb4} = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (I_j - I_{tb})^2}{n-1}}$$

Trong đó n là số lần đọc nhiệt độ từ chỉ thị của thiết bị  
 $t_j$ : giá trị nhiệt độ từ chỉ thị nhiệt.

- Độ không đảm bảo đo chuẩn liên hợp của thiết bị:

$$u_{tb} = \sqrt{u_{tb1}^2 + u_{tb2}^2 + u_{tb3}^2 + u_{tb4}^2}$$

c) *Độ KĐBĐ liên hợp*

$$u_{hc-t} = \sqrt{u_{ch-t}^2 + u_{tb-t}^2}$$

d) *Độ KĐBĐ mở rộng*

Độ không đảm bảo đo mở rộng với mức tin cậy 95%, hệ số phủ  $k=2$ .

$$U_t = 2 \times u_{hc-t}$$

4.1.4 **Khử nhiễm và xử lý mẫu**

- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được vệ sinh sạch sẽ.

**4.2. Nhận định kết quả**

Không áp dụng

**4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ**

4.3.1. **Trả kết quả**

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.

- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.

- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

4.3.2. **Phụ lục và biểu mẫu**

Không áp dụng

4.3.3. **Hồ sơ**

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm).

**5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

**5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật**

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng.

**5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Ghi chép sai thông số và kết quả phép đo.

**5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

**6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG****6.1. Nội kiểm**

Không áp dụng.

**6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng**

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng.

**7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- ĐLVN 127:2003. Tủ xác định nhu cầu oxi sinh hóa BOD – Quy trình hiệu chuẩn.
- TCVN 7699-3-5:2014. Thử nghiệm môi trường phần 3-5: Tài liệu hỗ trợ và hướng dẫn – xác nhận tính năng của tủ nhiệt độ.
- ASTM D 5374-1993 (Reapproved 2005). Standard test method for forced convection laboratory ovens for evaluation of electrical insulation.
- Estimation method for temperature uncertainty of temperature chambers (JTM K 08), 2008. Espec Technology Report 26, Espec Corp, Japan.
- New JTM standards for temperature test chambers (2007) – Methods of testing and indicating performance. Espec Technology Report 24, Espec Corp, Japan.
- Calibration of Temperature Block Calibrators- EURAMET cg-13
- Calibration ISO IEC 17025 Annex - Temperature metrology, NATA, Australia.
- Uncertainty components of a temperature calibration using a dry block- Beamex.
- Measurement uncertainty in calibration and compliancy testing of PCR and qPCR thermal cyclers-Mary Span(1), Marc Verblakt(2), and Tom Hendriks(1)- (1) CYCLERtest BV, Rötischerweg 61, 6374 XW Landgraaf, the Netherlands – (2). CelsiusLabs, Rötischerweg 61, 6374 XW Landgraaf, the Netherlands.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 285:**

**HIỆU CHUẨN MÁY ĐO ĐỘ DẪN BẰNG BẢNG PHƯƠNG PHÁP SO SÁNH  
VỚI DUNG DỊCH ĐỘ DẪN CHUẨN**

**1. ĐẠI CƯƠNG**

**1.1. Mục đích**

- Hướng dẫn này áp dụng để hiệu chuẩn các loại máy đo độ dẫn.

**1.2. Định nghĩa**

**1.2.1. Định nghĩa**

- Độ dẫn điện của chất lỏng: là khả năng của môi trường chất lỏng cho phép sự di chuyển của các hạt điện tích qua nó khi có lực tác động vào các hạt như lực tĩnh điện của điện trường. Sự di chuyển này tạo thành dòng điện và cơ chế của chuyển động này tùy thuộc vào vật chất. Độ dẫn điện là nghịch đảo của điện trở.

- Dung dịch chuẩn độ dẫn điện được chứng nhận: là loại chất chuẩn được chứng nhận thể lỏng có độ dẫn điện xác định.

- Đơn vị đo:

Độ dẫn điện:  $1/\text{Ohm} = 1\text{S(Siemen)} = 1000\text{mS (miliSiemen)} = 1000000\text{mS (microSiemen)}$ .

Độ dẫn điện riêng:  $\text{S/m}; \text{S/cm}; \text{mS/cm}; \text{mS/cm}$ .

- Độ không đảm bảo đo: là thông số gắn liền với kết quả đo, đặc trưng cho sự phân tán của các giá trị có thể quy cho đại lượng đo một cách hợp lý.

**1.2.2. Từ viết tắt**

- KĐBĐ: Không đảm bảo đo
- PTĐ: Phương tiện đo

**1.3. Nguyên lý**

So sánh kết quả đo trực tiếp giá trị độ dẫn điện của dung dịch chuẩn bằng thiết bị đo cần hiệu chuẩn với giá trị độ dẫn điện được chứng nhận của dung dịch chuẩn đó tại nhiệt độ ( $25 \pm 0,01^\circ\text{C}$ ).

**2. CHUẨN BỊ**

**2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Hiệu chuẩn: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán và phiên giải kết quả: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương



đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Xem xét và phê duyệt: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiết trùng, khử nhiễm: Trình độ 12/12 trở lên; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

## **2.2. Vật tư**

### **2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

- Dung dịch chuẩn TDS dải  $\leq 1000$  uS.
- Dung dịch chuẩn TDS dải  $> 1000$  uS.
- Còn 70%.
- Nước cất 2 lần.

### **2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Găng tay y tế.
- Khẩu trang y tế.
- Giấy thấm.
- Bình tia.
- Giấy chứng nhận hiệu chuẩn
- Văn phòng phẩm: bút, giấy A4, tem hiệu chuẩn.

## **2.3. Dụng cụ và thiết bị**

- Bể điều nhiệt.
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm môi trường.

## **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu**

### **2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận**

- Dùng giấy thấm, vệ sinh toàn bộ thiết bị.

### **2.4.2. Kiểm tra bên ngoài**

- Ký hiệu, nhãn hiệu ghi trên thiết bị phải rõ ràng, bao gồm: tên, model, số seri, nơi sản xuất, độ phân giải của thiết bị, mã thiết bị hay số nhận dạng.

### **2.4.3. Kiểm tra kỹ thuật**

- Kiểm tra trạng thái hoạt động bình thường và cơ cấu chính của PTĐ theo tài liệu kỹ thuật.

## **2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn**

Không áp dụng.

## **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Tổng thời gian thực hiện là 06 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng với điều kiện môi trường:

+ Nhiệt độ: 20°C -30° C

+ Độ ẩm: 30-80%RH

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

- Trước khi tiến hành hiệu chuẩn phải thực hiện các công việc chuẩn bị sau đây:

+ Cốc nhựa đựng dung dịch chuẩn độ dẫn điện phải được rửa sạch, sấy khô trước khi sử dụng.

+ Thiết bị đo phải được đặt trong PTN tối thiểu 2 giờ trước khi tiến hành hiệu chuẩn.

+ Rót 1 lượng vừa đủ dung dịch chuẩn vào cốc, đặt vào bể ổn nhiệt tại (25±0,01°C) ít nhất 30 phút.

- Tại mỗi điểm hiệu chuẩn độ dẫn, điện cực phải được rửa sạch bằng nước cất 2 lần, lau sạch và được tráng tối thiểu 3 lần bằng dung dịch chuẩn độ dẫn tương ứng.

#### 4.1.1. Chuẩn máy (nếu cần)

- Dựa theo hướng dẫn của tài liệu kèm theo máy, thực hiện chuẩn máy theo các điểm hiệu chuẩn đã chọn.

- Tại mỗi điểm kiểm tra, đầu đo của thiết bị đo phải được rửa sạch bằng nước cất, lau sạch và tráng tối thiểu 03 lần bằng dung dịch chuẩn tương ứng (không sử dụng lại dung dịch tráng) và ngâm trong dung dịch chuẩn tương ứng sao cho đầu dò cách thành bên và đáy bình chứa ít nhất 5mm. Giữ cố định đầu dò đảm bảo đầu dò không di chuyển trong quá trình đo. Khi giá trị hiển thị trên máy ổn định, cal lại máy theo giá trị chuẩn.

#### 4.1.2. Kiểm tra sai số

- Trước khi tiến hành hiệu chuẩn và sau khi hiệu chuẩn, ghi chỉ số nhiệt độ của bể điều nhiệt vào biên bản.

- Tại mỗi điểm kiểm tra, đo 05 lần liên tiếp dung dịch chuẩn bằng thiết bị đo.

- Tính độ dẫn trung bình tại điểm kiểm tra sau 5 lần đo:

$$\bar{C} = \frac{\sum C_i}{5}$$

- Sai số của phép đo được tính như sau:

$$d = \bar{C} - C_{ch}$$

Trong đó:

$C_i$ : giá trị đo của thiết bị đo ở lần đo thứ  $i$

$C_{ch}$ : Giá trị của dung dịch chuẩn tương ứng.

$d$ : sai số của phép đo.

Sai số  $d$  không được lớn hơn sai số cho phép của thiết bị đo.

- Độ lệch chuẩn của phép đo:

$$s_{cr} = \sqrt{\frac{\sum(C_i - \bar{C})^2}{n-1}}$$

$n$ : số lần thực hiện phép đo.

$C_i$ : giá trị đo của thiết bị đo ở lần đo thứ  $i$ .

$\bar{C}$ : giá trị đo trung bình của phép đo lặp lại

Độ lệch chuẩn  $s_{cr}$  không được lớn hơn 1/3 sai số cho phép của thiết bị cần hiệu chuẩn.

#### 4.1.3. Kiểm tra độ ổn định

- Chọn 01 dung dịch chuẩn có giá trị độ dẫn danh định phù hợp với phạm vi đo để kiểm tra độ ổn định với số lần đo lặp lại là 3 lần tại các thời điểm: 0 phút, sau 15 phút, 30 phút.

Độ ổn định:  $C_{stable} = \max(|C_{15} - C_0|, |C_{30} - C_0|)$

Trong đó:  $C$ : giá trị các lần đo tại điểm kiểm tra tại thời điểm 0 phút, 15 phút và 30 phút.

$C_{stable}$  không được lớn hơn độ chính xác của thiết bị cần hiệu chuẩn

#### 4.1.4. Ước lượng độ không đảm bảo đo

- Độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ) của phép hiệu chuẩn máy đo độ dẫn được tính toán từ các sai số ảnh hưởng đến các phép đo khi hiệu chuẩn, với mức tin cậy  $P = 95\%$  và hệ số phủ  $k=2$ .

-  $u_1$ : được lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn của dung dịch chuẩn, tính từ độ không đảm bảo đo mở rộng:  $U_{ch}$  được cho trong giấy chứng nhận hiệu chuẩn, được tính theo công thức:

$$u_1 = \frac{U_{ch}}{2}$$

-  $u_2$ : độ không đảm bảo đo của phép đo lặp lại, được tính theo công thức:

$$u_2 = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

$s$ : độ lệch chuẩn của phép đo lặp lại.

$n$ : số lần đo lặp lại.

-  $u_3$ : Độ không đảm bảo đo do độ phân giải của thiết bị đo

$$u_3 = \frac{d}{2\sqrt{3}}$$

Với:  $d$  là độ phân giải thiết bị đo.



- $u_4$ : Độ không đảm bảo đo do ảnh hưởng của nhiệt độ môi trường:

$$u_4 = \frac{\Delta t \Delta C}{\sqrt{3}}$$

Trong đó:

$\Delta C$  là độ thay đổi giá trị của dung dịch chuẩn khi môi trường thay đổi 1 độ được nhà sản xuất dung dịch chuẩn cung cấp ( độ nhạy của dung dịch chuẩn đối với nhiệt độ).

$\Delta t$  : chênh lệch lớn nhất của nhiệt độ môi trường với 25°C trước và sau hiệu chuẩn.

- Độ không đảm bảo đo liên hợp của kết quả hiệu chuẩn:

$$u_{hc} = \sqrt{u^2_1 + u^2_2 + u^2_3 + u^2_4}$$

- Độ không đảm bảo đo mở rộng với mức tin cậy 95%, hệ số phủ  $k=2$ .

$$U = 2 \times u_{hc}$$

- Độ không đảm bảo đo mở rộng tính theo phần trăm tại mỗi điểm hiệu chuẩn:

$$U\% = U * 100 / C_{ch} \quad (\%)$$

#### 4.1.5 Khử nhiễm và xử lý mẫu

Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được vệ sinh sạch sẽ.

### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

### 4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Không áp dụng

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm).

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng.

**5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Ghi chép sai thông số và kết quả phép đo.

**5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả.

- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

**6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG****6.1. Nội kiểm**

Không áp dụng.

**6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng**

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng.

**7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- ĐLVN 274:2014 – Phương tiện đo độ dẫn điện- Quy trình kiểm định.

- Calibrating contacting conductivity sensors- Application Data Sheet ADS 43-024- Emerson Process Management.

-HI 5321 Conductivity/Resistivity/TDS/Salinity/Temperature Bench Meter manual

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 286:**

**HIỆU CHUẨN MÁY ĐO ĐỘ ĐỤC BẰNG PHƯƠNG PHÁP SO SÁNH VỚI DUNG DỊCH ĐỘ ĐỤC CHUẨN**

**1. ĐẠI CƯƠNG**

**1.1. Mục đích**

- Hướng dẫn này áp dụng để hiệu chuẩn máy đo độ đục.

**1.2. Định nghĩa**

**1.2.1. Định nghĩa**

- Độ đục: gây ra bởi sự hiện diện của chất hòa tan và huyền phù như đất sét, bùn, chất vô cơ, sinh vật phù du, các vi sinh vật khác, axit hữu cơ, chất màu trong chất lỏng.

- Dung dịch chuẩn độ đục: là loại chất chuẩn được chứng nhận thể lỏng có độ đục xác định.

- Dung dịch trắng: là dung dịch được dùng để thiết lập giá trị độ đục < 0.1 NTU của máy đo độ đục và thường là dung môi tinh khiết như nước đã khử ion, nước cất 2 lần.

- Đơn vị đo:

+ NTU: Đơn vị đo độ đục khuếch tán (Nephelometric Turbidity Units).

+ FNU: Đơn vị đo độ đục Formazin khuếch tán (Formazin Nephelometric Units).

+ FTU: Đơn vị đo độ đục Formazin (Formazin Turbidity Units).

+ FAU: Đơn vị pha loãng Formazin (Formazin Attenuation Units).

1 NTU = 1 FNU = 1 FTU = 1 FAU.

- Độ không đảm bảo đo: là thông số gắn liền với kết quả đo, đặc trưng cho sự phân tán của các giá trị có thể quy cho đại lượng đo một cách hợp lý.

**1.2.2. Từ viết tắt**

- KĐBĐ: Không đảm bảo đo

- PTD: Phương tiện đo

**1.3. Nguyên lý**

So sánh kết quả đo trực tiếp giá trị độ đục của dung dịch chuẩn bằng thiết bị đo cần hiệu chuẩn với giá trị độ đục được chứng nhận của dung dịch chuẩn đó.

**2. CHUẨN BỊ**

**2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Hiệu chuẩn: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ



thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán và phiên giải kết quả: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Xem xét và phê duyệt: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiết trùng, khử nhiễm: Trình độ 12/12 trở lên; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

## 2.2. Vật tư

### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Dung dịch chuẩn độ đục dải  $\leq 1000$  NTU.
- Dung dịch chuẩn độ đục dải  $\geq 1000$  NTU.
- Cồn 70%.

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Găng tay y tế.
- Khẩu trang y tế.
- Giấy thấm.
- Giấy chứng nhận hiệu chuẩn
- Bình tia
- Văn phòng phẩm: bút, giấy A4, tem hiệu chuẩn

## 2.3. Thiết bị

- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm môi trường.

## 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

### 2.4.2. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Dùng giấy thấm vệ sinh toàn bộ thiết bị.

### 2.4.2. Kiểm tra bên ngoài

- Ký hiệu, nhãn hiệu ghi trên thiết bị phải rõ ràng, bao gồm: tên, model, số seri, nơi sản xuất, độ phân giải của thiết bị, mã thiết bị hay số nhận dạng.

### 2.4.3. Kiểm tra kỹ thuật

- Kiểm tra trạng thái hoạt động bình thường và cơ cấu chỉnh của PTĐ theo tài liệu kỹ thuật.

## 2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn

Không áp dụng.

## 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện là 06 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng với điều kiện môi trường:

+ Nhiệt độ: 20°C -30° C

+ Độ ẩm: 30-80%RH

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước tiến hành

Trước khi tiến hành hiệu chuẩn phải thực hiện các công việc chuẩn bị sau đây:

- Đeo găng tay không bột trước khi thực hiện hiệu chuẩn.

- Dung dịch chuẩn được đổ vào covet từ thành covet để tránh tạo bọt khí trong covet.

- Trước khi đưa covet vào máy, lau covet bằng khăn (giấy) mềm không xơ, sao cho không để nước, chất lạ hoặc dầu tay trên thành covet, đồng thời lắc nhẹ covet để mẫu được trộn đều.

- Nếu covet có nắp, sau khi đổ dung dịch chuẩn vào covet để một thời gian ngắn trước khi đóng nắp để bóng khí thoát ra (nếu có). Không nên đóng nắp quá chặt.

#### 4.1.1. Chuẩn máy (nếu cần)

- Dựa theo hướng dẫn của tài liệu kèm theo máy, thực hiện chuẩn máy theo các điểm hiệu chuẩn đã chọn.

- Chọn dung dịch chuẩn để thực hiện chuẩn độ thích hợp với từng loại máy.

- Lần lượt đặt cuvet chứa dung dịch chuẩn vào máy theo thứ tự hướng dẫn của máy để tiến hành chuẩn máy.

#### 4.1.2. Kiểm tra sai số

- Tại mỗi điểm hiệu chuẩn, đo 5 lần liên tiếp dung dịch chuẩn tương ứng.

- Sai số được tính theo công thức:

$$\delta = Y_d - Y_{ch}$$

$\delta$ : Sai số

$Y_d$ : Giá trị đọc trung bình 5 lần của thiết bị, NTU.

$Y_{ch}$ : Giá trị độ đục trong giấy chứng nhận của chuẩn, NTU.

Sai số  $\square\square$  không được lớn hơn sai số cho phép của PTĐ

- Độ lệch chuẩn s trong công thức sau:

$$s = \sqrt{\frac{\sum(Y_i - \bar{Y})^2}{n}}$$

$Y_i$ : giá trị đo thứ  $i$ .

$\bar{Y}$ : Giá trị đo trung bình.

$n$ : số lần đo.

Độ lệch chuẩn  $s$  không được lớn hơn 1/3 sai số cho phép của PTĐ.

#### 4.1.3. Ước lượng độ không đảm bảo đo

Độ không đảm bảo đo (ĐKĐBĐ) tại mỗi điểm hiệu chuẩn được xác định như sau:

- Từ ĐKĐBĐ của dung dịch chuẩn độ được cho trong giấy chứng nhận của dung dịch chuẩn.

$$u_{ch} = \frac{U_{ch}}{2}$$

Với  $U_{ch}$  là ĐKĐBĐ mở rộng của dung dịch chuẩn độ được.

- Từ độ tán mạn của các giá trị đo lặp lại.

$$u_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

$s$ : độ lệch chuẩn của phép đo lặp lại tại 1 dung dịch chuẩn độ được.

$n$ : số lần lấy dữ liệu trong phép đo lặp lại.

- Từ độ phân giải của PTĐ.

$$u_{res} = b/2\sqrt{3}$$

$b$ : độ phân giải chỉ thị của PTĐ

- Độ KĐBĐ liên hợp

$$u_{hc} = \sqrt{u_{ch}^2 + u_{res}^2 + u_{rep}^2}$$

- Độ KĐBĐ mở rộng

Độ không đảm bảo đo mở rộng với mức tin cậy 95%, hệ số phủ  $k=2$ .

$$U = 2 \times u_{hc}$$

Độ không đảm bảo đo mở rộng tính theo phần trăm tại mỗi điểm hiệu chuẩn:

$$U\% = U \cdot 100 / Y_{ch} \quad (\%)$$

#### 4.1.4. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được vệ sinh sạch sẽ.

### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

### 4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả



- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận hiệu chuẩn.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Không áp dụng

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm).

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Ghi chép sai thông số và kết quả phép đo.

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tính toán sai kết quả hiệu chuẩn. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả
- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Nội kiểm

Không áp dụng.

#### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng.

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- ĐLVN 275: 2014 - Phương tiện đo độ đục của nước - Quy trình kiểm định.
- Hướng dẫn sử dụng máy đo độ đục cầm tay HI93703 – Hanna Instruments.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 287:**  
**THỬ NGHIỆM NỒI HẤP TIỆT TRÙNG**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, điều kiện thử nghiệm, trình tự, tính toán, công bố kết quả thử nghiệm nồi hấp tiệt trùng nhằm đảm bảo việc thử nghiệm luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

### **1.2. Định nghĩa**

#### 1.2.1. Giải thích từ ngữ

Không áp dụng.

#### 1.2.2. Từ viết tắt

- BI: Biological Indicator (Chỉ thị sinh học)
- CI: Chemical Indicator (Chỉ thị hóa học)
- QLCL: Quản lý chất lượng
- QLKT: Quản lý kỹ thuật
- KĐBĐ: Không đảm bảo đo

### **1.3. Nguyên lý**

Nồi hấp tiệt trùng sử dụng hơi bão hòa ở nhiệt độ cao để tiêu diệt toàn bộ bào tử trong các vật dụng, rác... cần tiệt trùng. Do đó, việc thử nghiệm nồi hấp sẽ nhằm mục đích đánh giá khả năng này của nồi hấp thông qua các chỉ tiêu thử nghiệm: về nhiệt độ, về thời gian duy trì nhiệt độ tiệt trùng, thông qua các cảm biến nhiệt độ, áp suất, chỉ thị hóa học và chỉ thị sinh học.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

### **2.2. Vật tư**

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

Không áp dụng.

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Chỉ thị hóa học (CI)

- Chỉ thị sinh học (BI)
- Găng tay không bột các kích cỡ
- Pin chuyên dụng cho cảm biến
- Dung dịch khử trùng
- Văn phòng phẩm: bút, giấy A4, mực in, ghim, kẹp, tem thử nghiệm

Bảo quản sinh phẩm, hoá chất theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### **2.3. Thiết bị**

- Cảm biến nhiệt độ không dây hoặc tương đương
- Cảm biến áp suất không dây hoặc tương đương
- Máy tính xách tay
- Bộ giao diện đo nhiệt độ, độ ẩm, áp suất không dây
- Thiết bị ủ chỉ thị sinh học

### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu**

#### **2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận**

- Chỉ thực hiện việc thử nghiệm khi khách hàng đã bàn giao thiết bị cho nhân viên thực hiện.

- Nồi hấp tiệt trùng chỉ được thử nghiệm khi có nguồn điện cấp đầy đủ.

- Nồi hấp đã được chuẩn bị đầy đủ điều kiện khác như: tải, giờ, nước, v.v... để có thể tiến hành thử nghiệm.

#### **2.4.2. Xác định chỉ tiêu thử nghiệm**

Căn cứ theo hợp đồng hoặc văn bản thỏa thuận để đưa ra số điểm thử nghiệm, nhiệt độ thử nghiệm, thời gian, số lần, có tải hay không để thử nghiệm.

#### **2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng**

- Sử dụng cảm biến nhiệt độ, cảm biến áp suất không dây ghi lại quá trình thay đổi nhiệt độ, áp suất của nồi hấp tiệt trùng.

- Căn cứ theo hợp đồng hoặc văn bản thỏa thuận để áp dụng chỉ thị sinh học, chỉ thị hóa học, chỉ thị đuôi khí...hay không

### **2.5. Phiếu chỉ định thử nghiệm**

Không áp dụng

### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 31 giờ

### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Tại sở sở sử dụng thiết bị



### 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

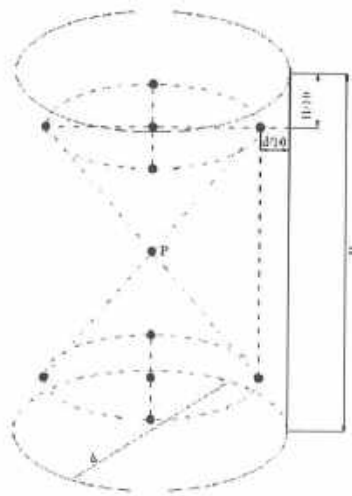
#### 4.1. Các bước thực hiện

##### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

##### a) Bước 1: xác định điểm đo, sơ đồ đấu nối

- Căn cứ theo hợp đồng hoặc văn bản thỏa thuận để có số điểm thử nghiệm, nhiệt độ thử nghiệm, thời gian, số lần, có tải hay không để thử nghiệm.

- Từ số điểm thử nghiệm tiến hành bố trí các cảm biến vào vị trí phù hợp theo sơ đồ đã đánh dấu sẵn các vị trí dưới đây:



- Thông thường với các nôi hấp ở cấp phòng thí nghiệm, bệnh viện, v.v... sẽ bố trí 8 cảm biến nhiệt độ, 1 cảm biến nhiệt độ-áp suất. Tại vị trí P (trung tâm) là để đặt cảm biến nhiệt độ-áp suất.

- Đối với nôi hấp có dạng hình hộp thì ta thay đường kính  $d$  bằng chiều dài ( $L$ ) và chiều rộng ( $W$ ) và cũng sử dụng tỷ lệ 1/10 để xác định các điểm biên.

- Các CI thử nhiệt độ đặt tối thiểu tại 3 mức: trên-giữa-dưới với nôi hấp dạng đứng và trong-giữa-ngoài với nôi hấp nằm ngang.

- Riêng với CI thử khả năng rút khí thì phải đặt ở vị trí thấp nhất trong nôi hấp tiết trùng.

- Các BI cùng đặt tối thiểu ở 3 vị trí như CI nhiệt độ, trong trường hợp có mẫu thử tiết trùng thì phải đặt vào tâm của từng mẫu này.

- Trong trường hợp có tải thì các cảm biến, BI, CI nhiệt vẫn được bố trí như hình vẽ nhưng phải đặt vào trung tâm của mẫu tải tại từng khu vực tương ứng.

##### b) Bước 2: cài đặt các cảm biến nhiệt độ, áp suất, BI, CI

- Tiến hành bật máy tính xách tay, kết nối các cảm biến với máy tính qua interface

- Đồng bộ đồng hồ của máy tính tới host của NIST (National Institute of Standards and Technology - Viện Tiêu chuẩn và Công nghệ quốc gia Mỹ) qua internet.

- Chạy phần mềm (đi kèm với cảm biến) để cài đặt thời gian bắt đầu và thời gian lấy mẫu. Thời gian lấy mẫu quy định cho việc thử nồi hấp tiệt trùng là 5 giây.

- Đánh số thứ tự cho các cảm biến và ghi vào biểu mẫu.

- Đánh số thứ tự cho các BI, CI tương ứng vào biểu mẫu.

*c) Bước 3: bố trí các cảm biến nhiệt độ, áp suất, BI, CI vào nồi hấp tiệt trùng*

- Sử dụng giò của nồi hấp tiệt trùng, giá đỡ thiết bị để thuận tiện cho việc bố trí các cảm biến vào vị trí như đã lựa chọn.

- Đóng chặt nắp của nồi hấp tiệt trùng.

*d) Bước 4: cài đặt thông số nhiệt độ, thời gian tiệt trùng cho nồi hấp*

- Căn theo hợp đồng hoặc văn bản thỏa thuận để cài đặt nhiệt độ, thời gian tiệt trùng cho nồi hấp.

- Thông thường thử nghiệm tại 121°C trong 20 phút.

*e) Bước 5: kiểm tra khả năng hoạt động của đồng hồ áp suất nồi hấp tiệt trùng*

- Khi nồi hấp tiệt trùng được gia nhiệt đến 100°C, nhân viên thực hiện sẽ quan sát xem đồng hồ áp suất của nồi hấp có thay đổi số chỉ hay không khi nhiệt độ tăng trên 100°C.

- Khi nồi hấp tiệt trùng đạt nhiệt độ cài đặt và đếm ngược thời gian tiệt trùng, nhân viên thực hiện ghi nhận giá trị của đồng hồ áp suất lúc này.

- Khi nồi hấp tiệt trùng đã kết thúc quá trình tiệt trùng và nhiệt độ đã giảm xuống dưới 100°C, nhân viên thực hiện quan sát xem đồng hồ áp suất có trở về vị trí 0 hay không.

*f) Bước 6: lấy cảm biến, BI, CI ra khỏi nồi hấp tiệt trùng*

- Chỉ được mở nồi hấp để lấy cảm biến, BI, CI khi nồi hấp đã kết thúc quá trình tiệt trùng và cho phép mở.

- Đối với một số nồi hấp cũ không có chế độ bảo vệ người thì nhân viên thực hiện phải quan sát đồng hồ áp suất đã trở về 0 và nhiệt độ hiển thị dưới 80°C mới được mở.

- Lưu ý khi mở: khi mở nồi hấp tiệt trùng để lấy các thiết bị, phải mở thật chậm để tránh những tai nạn do hơi nóng bốc ra.

*g) Bước 7: lấy dữ liệu nhiệt độ, áp suất vào máy tính*

- Chạy phần mềm (đi kèm với cảm biến) để tải dữ liệu nhiệt độ, áp suất trong suốt quá trình tiệt trùng vào máy tính.

- Căn cứ trên kết quả thử nghiệm đã tải về để sơ bộ đánh giá kết quả. Trong trường hợp kết quả thử không đạt và có nguy cơ gây mất an toàn cho người sử dụng thì phải báo ngay cho người có thẩm quyền để thông báo chính thức đến khách hàng.

*h) Bước 8: Nuôi cấy BI*

- Đối với những thử nghiệm có sử dụng BI, tiến hành sử dụng BI (chưa qua tiệt trùng) làm chứng dương và các BI đã lấy ra ở bước 6 nói trên cho vào tủ ẩm để tiến hành nuôi cấy.

- Kết quả của thử nghiệm bằng BI sẽ được tự động in ra sau từ 6-10 tiếng nuôi cấy.

#### 4.1.2. Tính toán kết quả

##### a) Tính toán các thông số nhiệt độ

Nhân viên thực hiện sử dụng dữ liệu để tính:

- Nhiệt độ trung bình tại từng vị trí theo công thức:

$$\bar{T}_j = \frac{T_{j1} + T_{j2} + \dots + T_{jn}}{n}$$

- Tính độ biến động tại từng vị trí theo công thức của độ lệch chuẩn:

$$S_j = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (T_{ji} - \bar{T}_j)^2}{n-1}}$$

Trong đó j là số vị trí tương ứng, n là số giá trị lấy mẫu.

- Tính độ ổn định nhiệt độ của nồi hấp tiệt trùng:

+Độ ổn định của tủ nhiệt tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{od} = \pm \frac{1}{2} \max (t_{\max,j} - t_{\min,j}) \quad j: 1, 2, \dots, k$$

trong đó:  $\delta t_{od}$  là độ ổn định của nồi hấp tại nhiệt độ kiểm tra.

$t_{\max,j}; t_{\min,j}$ : nhiệt độ cao nhất và thấp nhất của nhiệt kế chuẩn thứ j tại điểm nhiệt độ kiểm tra.

- Tính độ đồng đều nhiệt độ của nồi hấp tiệt trùng:

+Độ đồng đều của tủ nhiệt tại một điểm nhiệt độ được xác định như sau:

$$\delta t_{dd} = \pm \frac{1}{2} [t_{\max} - t_{\min}]$$

trong đó:  $\delta t_{dd}$  là độ đồng đều của nồi hấp.

$t_{\max}, t_{\min}$  là nhiệt độ lớn nhất và nhỏ nhất trong k cảm biến.

##### b) Ước lượng độ KĐBĐ

- Độ KĐBĐ loại A uA:

$$u_A = \sqrt{\frac{\sum_1^N S_j^2}{n}}$$

trong đó:  $S_j$  là độ lệch chuẩn tại điểm đo thứ N, n là số lần đọc tại mỗi điểm đo.

$$S_j = \sqrt{\frac{\sum_1^n (t_i - \bar{t})^2}{(n-1)}}$$

n: số lần đọc tại mỗi điểm,

t<sub>i</sub>: lần đọc thứ i,

$\bar{t}$ : nhiệt độ trung bình tại điểm kiểm tra.

- Độ KĐBĐ loại B do tổ hợp chuẩn sử dụng  $u_{B1}$ :



+Độ KĐBĐ đo chuẩn được sử dụng để thử nghiệm nôi hấp  $u_{B1}$  được xác định theo công thức:

$$u_{B1} = \frac{U_{std}}{2}$$

trong đó:  $U_{std}$  là độ KĐBĐ mở rộng lớn nhất của các cảm biến dùng để thử nghiệm (lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn) °C.

- Độ KĐBĐ loại B do độ ổn định và độ đồng đều  $u_{B2}$  được xác định theo công thức:

$$u_{B2} = \sqrt{u_{dd}^2 + u_{od}^2}$$

trong đó:

+Độ KĐBĐ do độ đồng đều nhiệt độ của tủ nhiệt được xác định theo công thức:

$$u_{dd} = \frac{\delta T_{dd}}{\sqrt{3}}$$

+Độ KĐBĐ do độ ổn định nhiệt độ của tủ nhiệt được xác định theo công thức:

$$u_{od} = \frac{\delta T_{od}}{\sqrt{3}}$$

- Độ KĐBĐ tổng hợp  $u_c$  được xác định theo công thức:

$$u_c = \sqrt{u_A^2 + u_{B1}^2 + u_{B2}^2}$$

- Độ KĐBĐ mở rộng  $U$  được xác định theo công thức:

$$U = k.u_c$$

trong đó:  $k$  là hệ số phủ,  $k = 2$  ứng với mức độ tin cậy xấp xỉ 95%

*c) Tính toán kết quả phân bố nhiệt độ*

- Tính độ lệch chuẩn tại mỗi vị trí thử nghiệm trong suốt thời gian duy trì nhiệt độ cài đặt.

- Tính sai lệch cực đại giữa các vị trí thử nghiệm.

- Nhiệt độ thấp nhất và cao nhất trong suốt quá trình thử nghiệm.

*d) Tính toán kết quả thử nghiệm thời gian*

- Sử dụng thời điểm nhiệt độ của cảm biến nhiệt độ thấp nhất tăng đến nhiệt độ cài đặt làm thời điểm bắt đầu tiết trùng.

- Sử dụng thời điểm nhiệt độ của cảm biến nhiệt độ thấp nhất giảm đến nhiệt độ cài đặt làm thời điểm kết thúc tiết trùng.

*e) Thử nghiệm với CI*

- Các CI đạt hay không đã được quy định rõ trên từng chỉ thị.

- Các chỉ thị hóa học thông thường có thể nhận định kết quả ngay sau khi kết thúc quá trình tiết trùng.

#### f) Thử nghiệm với BI

- Các BI sau khi kết thúc quá trình thử nghiệm cần bóp vỡ ống chứa môi trường bên trong BI để bào tử có thể tiếp xúc với nhau. Đặt các BI này vào tủ ủ chỉ thị sinh học trong 24 giờ (phụ thuộc vào hướng dẫn của nhà sản xuất BI).

- Sử dụng thêm 01 BI cùng lô sản xuất mà không qua tiệt trùng cũng làm tương tự bước trên để làm chứng.

#### g) Thử nghiệm đồng hồ áp suất của nồi hấp tiệt trùng

- Đánh giá khả năng hoạt động bình thường của đồng hồ áp suất nồi hấp tiệt trùng căn cứ vào:

+Đồng hồ áp suất có tăng khi nhiệt độ lên trên 100°C.

+Đồng hồ áp suất có ổn định ở nhiệt độ cài đặt.

+Đồng hồ áp suất có về 0 không sau khi kết thúc quá trình tiệt trùng và nhiệt độ xuống dưới 100°C.

- Công bố sai lệch giữa đồng hồ áp suất nồi hấp tiệt trùng với cảm biến áp suất chuẩn sử dụng trong quá trình thử nghiệm trong thời gian duy trì nhiệt độ cài đặt.

#### 4.1.3. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm

- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định

- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được trả về chế độ cài đặt ban đầu và bàn giao lại thiết bị cho khách hàng.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Tùy theo yêu cầu của khách hàng có thể công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn.

- Đối với khách hàng không có yêu cầu cụ thể về cách đánh giá kết quả hiệu chuẩn thì sử dụng kết quả tính toán sai số ngẫu nhiên và sai số hệ thống để so sánh với tiêu chuẩn ISO 8655-2:2022.

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận thử nghiệm.

- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.

- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả thử nghiệm.

- Trả kết quả thử nghiệm cho khách hàng.

##### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

- Biểu mẫu Giấy chứng nhận thử nghiệm

##### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

## **5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật**

- Nồi hấp tiệt trùng phải cài đặt được nhiệt độ tiệt trùng một cách trực tiếp không thông qua việc cài đặt áp suất. Do việc cài đặt bằng áp suất có thể dẫn tới nhiệt độ tiệt trùng lớn hơn nhiệt độ làm việc của thiết bị, gây hỏng.

- CI về nhiệt phải phù hợp với ISO 11140-1:2014 hoặc tiêu chuẩn tương đương và còn hạn sử dụng.

- CI về đuôi khí phải phù hợp với ISO 11140-4:2007 hoặc tiêu chuẩn tương đương và còn hạn sử dụng

- BI phải phù hợp ISO 11138-3:2017 hoặc tiêu chuẩn tương đương và còn hạn sử dụng.

### **5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật**

Theo dõi quá trình hoạt động của thiết bị, nếu phát hiện hiện tượng bất thường (nhiệt độ, áp suất tăng cao, có tiếng động lạ phát ra từ thiết bị...) mau chóng dừng thiết bị và tìm nguyên nhân khắc phục, chỉ thực hiện lại việc thử nghiệm nồi hấp khi đã đảm bảo thiết bị hoạt động bình thường.

### **5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

Thiết bị sau khi thử nghiệm được trả về chế độ cài đặt ban đầu và bàn giao lại thiết bị cho khách hàng.

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

### **6.1. Nội kiểm**

Không áp dụng.

### **6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng**

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- DIN/EN 554:1994 Sterilization of medical devices (Validation and routine control of sterilization by moist heat)

- SOP I-110 Operation and calibration of the Autoclave, version 4, 03.06.2009 (TIAER – Texas Institute for Applied Environmental Research)

- QAM-I-1 10 Operation and Calibration of the Autoclave: version 6, 03.01.2013 (Texas Institute for Applied Environmental Research)

- BS EN 285:2015 Sterilization – Steam sterilizers – Large sterilizers



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 288:**  
**THỬ NGHIỆM TỬ AN TOÀN SINH HỌC**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, điều kiện thử nghiệm, trình tự, tính toán, công bố kết quả thử nghiệm tử an toàn sinh học (ATSH) cấp I, II, III, tử sạch, các thiết bị tương tự để đảm bảo việc thử nghiệm tử ATSH nhằm đảm bảo việc thử nghiệm luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

- Bộ lọc HEPA/ULPA: được viết tắt của cụm từ High Efficiency Particulate Air / Ultra Low Penetration Air là những bộ lọc không khí hiệu suất cao.

- Kính chắn tù: là phần ngăn cách giữa nghiên cứu viên và khu vực làm việc bên trong tủ. Tấm kính chắn này có thể di chuyển lên đến vị trí thích hợp (vị trí làm việc) và đóng lại được khi kết thúc công việc.

- Gió vào: nhằm bảo vệ nghiên cứu viên trong quá trình sử dụng, tủ ATSH có hệ thống quạt luôn đảm bảo luồng gió được hút từ ngoài phòng thí nghiệm đi vào trong tủ.

- Gió xuống: nhằm bảo vệ mẫu trong quá trình sử dụng, tủ ATSH có hệ thống quạt luôn đảm bảo gió trước khi thổi xuống bề mặt làm việc phải đi qua bộ lọc HEPA/ULPA cấp.

- Khoảng mở kính chắn: là khoảng cách từ mép dưới kính chắn tù xuống bề mặt làm việc của tủ.

- Khoảng mở hữu dụng: là khoảng mở mà ở đó có không khí lưu thông.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- HEPA: High Efficiency Particulate Air (Bộ lọc không khí hiệu suất cao)

- ATSH: An toàn sinh học

- KCTB: Phòng Kiểm chuẩn thiết bị

- PAO: Poly Alpha Olefin (dung dịch tạo hạt)

- KĐBĐ: Không đảm bảo đo

### **1.3. Nguyên lý**

Tử an toàn sinh học, tử sạch và các thiết bị tương tự có nhiệm vụ bảo vệ các yếu tố sau: bảo vệ người, bảo vệ mẫu, bảo vệ môi trường. Do đó, việc thử nghiệm thiết bị sẽ chủ yếu kiểm tra các tính năng bảo vệ trên.

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

### 2.2. Vật tư

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

Không áp dụng

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Găng tay không bột các kích cỡ.
- Dung dịch khử trùng
- Pin AA, 9V
- Dầu PAO (Poly Alpha Olefin)
- Văn phòng phẩm: bút, giấy A4, mực in, ghim, kẹp, tem thử nghiệm
- Bảo quản sinh phẩm, hoá chất theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Máy đo tốc độ dòng khí
- Phễu đo lưu lượng gió
- Photometer
- Máy đếm hạt
- Máy tạo hạt PAO của ATI
- Máy tạo hạt PAO của TSI
- Máy tạo khói
- Máy đo độ ồn
- Đo độ rọi
- Đo cường độ ánh sáng tím
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm, áp suất.
- Các thiết bị phụ trợ: thang, giá đỡ...

## 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Chỉ thực hiện việc thử nghiệm khi khách hàng đã bàn giao thiết bị cho nhân viên thử nghiệm.

- Tủ cần thử nghiệm chỉ được thử nghiệm khi có nguồn điện cấp đầy đủ.

- Loại bỏ những yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả đo của tủ.

- Chuyển toàn bộ dụng cụ thí nghiệm ra khỏi tủ để kết quả đo được chính xác và thuận tiện thao tác.

### 2.4.2. Xác định chỉ tiêu thử nghiệm

- Các đối tượng thử nghiệm cụ thể sẽ có các chỉ tiêu thử nghiệm tương ứng. Dưới đây là bảng xác định thông số đo với 3 đối tượng tiêu biểu:

TT	Chỉ tiêu thử nghiệm	Tủ ATSH cấp I	Tủ ATSH cấp II	Tủ ATSH cấp III	Tủ sạch
1	Đo tốc độ gió xuống	n/a	Ö	n/a	Ö
2	Đo tốc độ gió vào	Ö	Ö	Ö	n/a
3.1	Thử nghiệm rò rỉ HEPA cấp	n/a	Ö	Ö	Ö
3.2	Thử nghiệm rò rỉ HEPA thải	Ö	Ö	Ö	n/a
4	Thử nghiệm hình thái dòng khí	Ö	Ö	Ö	Ö
5	Đo độ ồn	Ö	Ö	Ö	Ö
6	Đo độ rọi bề mặt làm việc	Ö	Ö	Ö	Ö
7	Đo cường độ ánh sáng tím	Ö	Ö	Ö	Ö

- Đối với những đối tượng ngoài bảng trên các chỉ tiêu thử nghiệm sẽ được từng hãng nêu chi tiết trong tài liệu hướng dẫn sử dụng thiết bị.

### 2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng

Không áp dụng

## 2.5. Phiếu chỉ định thử nghiệm

Không áp dụng

## 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 8 giờ

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại sơ sở sử dụng thiết bị



### 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 4.1. Các bước thực hiện

##### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

##### a) Bước 1: Khử nhiễm

- Khử nhiễm tủ bằng cồn 70% hoặc các biện pháp phù hợp đối với tủ đang sử dụng với mẫu có nguy cơ về an toàn sinh học. Tùy tính chất về nguy cơ về an toàn sinh học mà biện pháp khử nhiễm đã được nêu trong hợp đồng hoặc biên bản thỏa thuận với khách hàng.

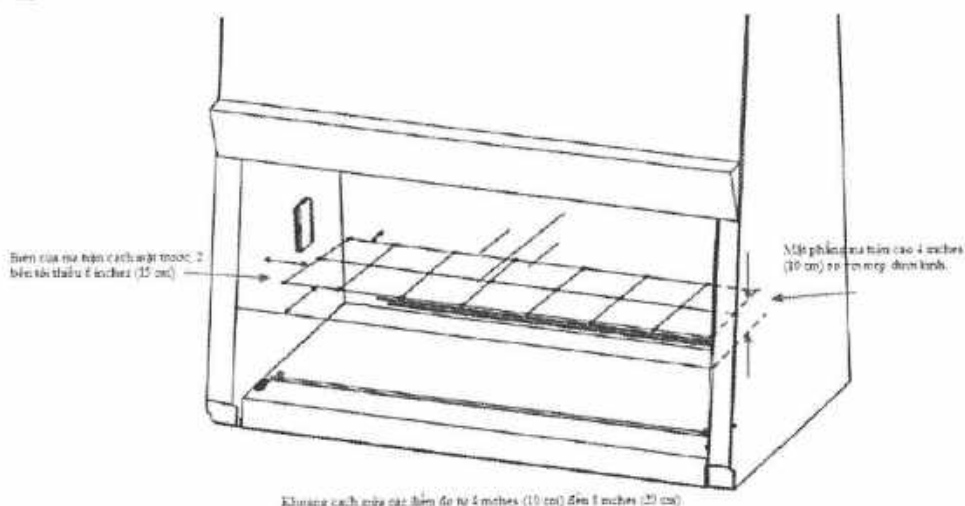
- Sau khi khử nhiễm xong tủ, chạy tủ ở trạng thái hoạt động bình thường cho tới khi kết thúc quá trình khởi động.

##### b) Bước 2: Xác định phương pháp, vị trí đo

Gió thổi xuống bề mặt làm việc

- Trường hợp tủ có quy định cách đo theo hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc data plate (tem dán trên tủ). Tiến hành đo theo hướng dẫn này của nhà sản xuất.

- Trường hợp tủ không có hướng dẫn cụ thể, xác định các điểm đo như sau: mặt phẳng ma trận điểm đo cao hơn mép dưới của kính chắn 10 cm. Biên của ma trận cách 15 cm với kính và 2 cạnh bên, khoảng cách giữa các điểm đo từ (10÷20) cm và tối thiểu là 3 hàng. Với tủ rộng  $\geq 0,9$  m thì số điểm đo mỗi hàng  $\geq 7$ , với tủ rộng  $< 0,9$  m thì mỗi hàng có  $\geq 4$  điểm đo.



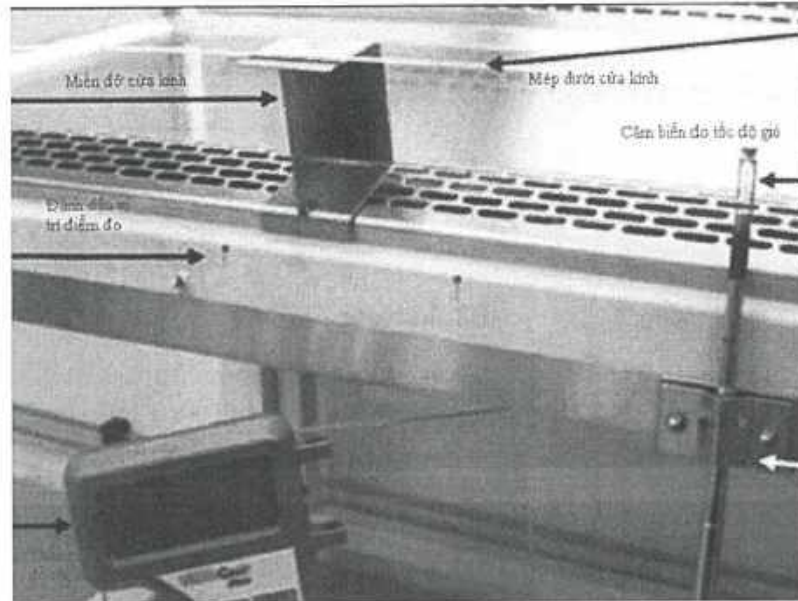
Gió hút vào tủ

- Trường hợp tủ có quy định cách đo theo hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc data plate (tem dán trên tủ). Tiến hành đo theo hướng dẫn này của nhà sản xuất.

- Trường hợp tủ không có hướng dẫn cụ thể tiến hành sử dụng 1 trong các phương pháp dưới đây với thứ tự ưu tiên lần lượt là:

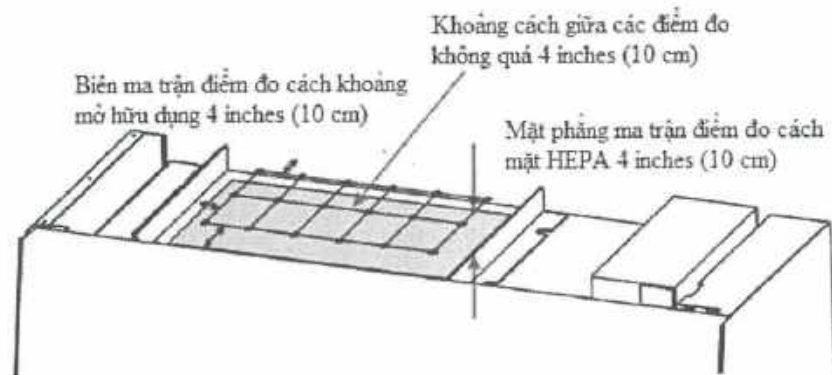
+Phương pháp cửa hẹp: Độ mở của cửa khi tiến hành đo do hãng quy định, số điểm

đo không ít hơn 2 điểm trên 0,3 m chiều rộng tủ. Kết quả đo trung bình sau đó sẽ phải nhân với hệ số điều chỉnh (nhà sản xuất cung cấp) để có được giá trị thật. Hình minh họa:



#### +Phương pháp cửa thái

• Trong trường hợp cửa thái có dạng chữ nhật: khoảng mở hữu dụng cửa thái mới được sử dụng để bố trí ma trận điểm đo. Mặt phẳng bố trí điểm đo cao hơn bề mặt HEPA 10 cm. Biên của ma trận điểm đo cách khoảng mở hữu dụng 10 cm về 4 phía. Khoảng cách giữa các điểm đo  $\leq 10$  cm. Chi tiết xem hình dưới:

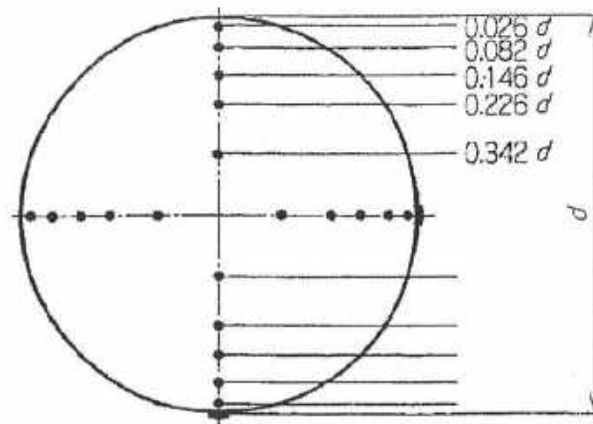


• Trong trường hợp cửa thái có dạng tròn: ma trận điểm đo được xác định ngay tại mặt phẳng của khoảng mở. Trên khoảng mở hữu dụng ma trận 20 điểm đo được xác định như hình dưới:

*Scun*

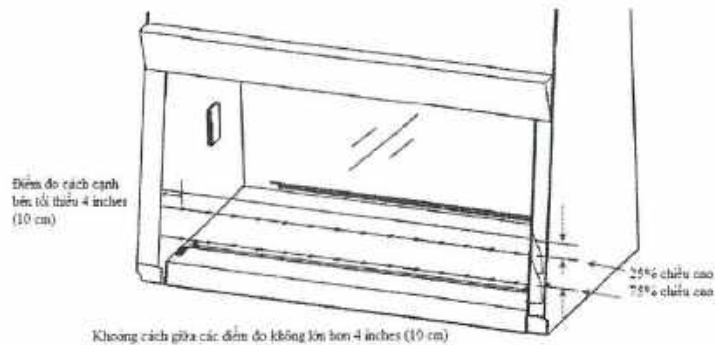
*mm*

2716



d: là đường kính của khoảng mở hữu dụng

+Phương pháp cửa thường: Điểm đo được xác định trên 2 hàng: 25% và 75% chiều cao mở cửa (lưu ý tính từ mép kính xuống bề mặt làm việc của tủ). Điểm đo cách cạnh bên  $\geq 10$  cm và khoảng cách giữa các điểm đo  $\leq 10$  cm. Chi tiết xem hình dưới:



+Phương pháp trực tiếp: Sử dụng phễu đo lưu lượng gắn vào cửa làm việc của tủ để đo. Phễu phải được kê lên trên đế. Phải đảm bảo kín ở các điểm đầu nối. Phải đảm bảo không có cản trở gió qua miệng phễu. Tham khảo cách bố trí như hình dưới:



- Rò rỉ HEPA/ULPA

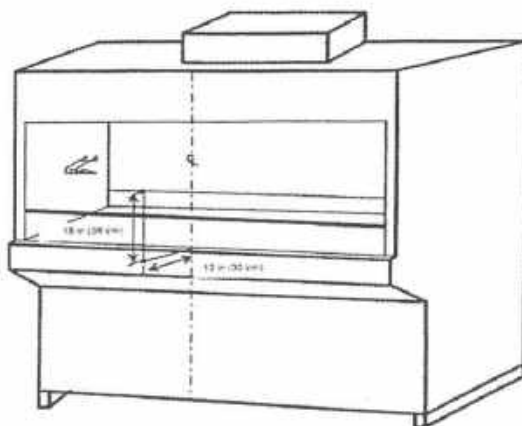
+Phương pháp 1: sử dụng hệ máy tạo PAO và máy quét (photometer) HEPA/ULPA của hãng ATI. Vị trí tạo PAO đặt tại trung tâm bề mặt làm việc của tủ.

+Phương pháp 2: sử dụng hệ máy tạo PAO của hãng TSI và máy đếm hạt. Vị trí tạo PAO đặt tại trung tâm bề mặt làm việc của tủ.

- Độ ồn



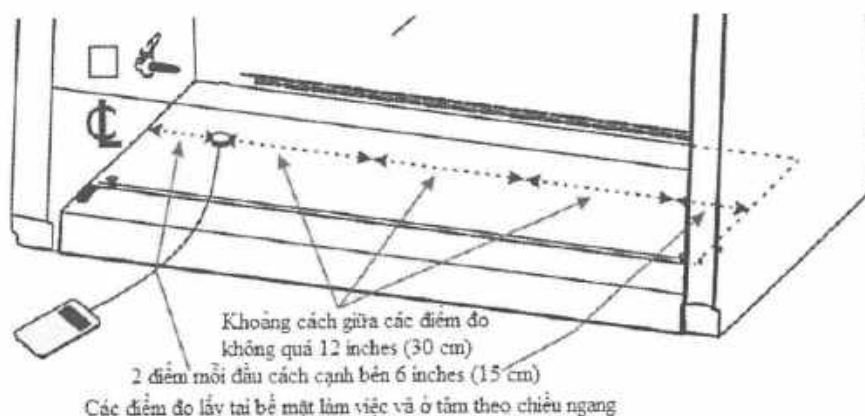
+Xác định vị trí đo độ ồn: máy được gắn vào chân đế (chân đế máy ảnh) theo phương ngang, cảm biến hướng về phía tủ, vuông góc với mặt trước của tủ, cảm biến cách tủ 30 cm và cao 38 cm so với mặt làm việc của tủ như hình dưới:



- Độ rọi bề mặt làm việc và cường độ ánh sáng tím

+Trường hợp tủ có quy định cách đo theo hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc data plate (tem dán trên tủ). Tiến hành đo theo hướng dẫn này của nhà sản xuất.

+Trường hợp tủ không có hướng dẫn cụ thể, xác định điểm đo như sau: các điểm đo nằm dọc đường tâm bề mặt làm việc theo chiều ngang. 2 điểm mỗi đầu cách cạnh bên tủ 15 cm, các điểm còn lại cách nhau  $\leq 30$  cm:



### c) Bước 3: Tiến hành đo

- Đo tốc độ gió thổi xuống bề mặt làm việc của tủ

+Sử dụng máy đo tốc độ gió để tiến hành đo.

+Kết nối cảm biến vào thân máy, đầu cảm biến được gắn vào giá.

+Cài đặt máy ở chế độ đo tốc độ với đơn vị là [m/s] cài đặt máy đo hiển thị giá trị trung bình trong 5s liên tiếp.

*Handwritten signatures in blue ink.*

+Tại mỗi vị trí đo, sau khi đặt cảm biến, chờ tối thiểu 5s để máy đo ổn định giá trị, ghi lại giá trị này vào biên bản.

- Đo tốc độ gió hút vào tủ

+Trường hợp sử dụng máy đo tốc độ gió để tiến hành đo.

• Khi sử dụng máy đo tốc độ gió: kết nối cảm biến vào thân máy, đầu cảm biến được gắn vào giá.

• Cài đặt máy ở chế độ đo tốc độ với đơn vị là [m/s] cài đặt máy đo hiển thị giá trị trung bình trong 5s liên tiếp.

• Tại mỗi vị trí đo, sau khi đặt cảm biến, chờ tối thiểu 5s để máy đo ổn định giá trị, ghi lại giá trị này vào biên bản.

+Trường hợp sử dụng phễu đo lưu lượng gió để tiến hành đo (phương pháp trực tiếp)

• Cài đặt máy ở chế độ đo lưu lượng với đơn vị là [m<sup>3</sup>/h] và cảm biến là dạng phễu.

• Lắp đặt máy đúng như mô tả tại mục 10.2.2.3.2, lưu ý làm kín giữa thiết bị đo và tủ, đảm bảo không có gì cản trở luồng gió hút qua phễu vào tủ để có được kết quả đo chính xác.

• Đo lặp ít nhất 5 lần và ghi nhận kết quả vào biên bản.

- Thử nghiệm rò rỉ của bộ lọc HEPA

+Khi sử dụng hệ máy tạo hạt của hãng TSI và máy đếm hạt để tiến hành thử nghiệm.

• Đầu nối máy tạo PAO của hãng TSI. Cài đặt máy đếm hạt đo ở cỡ hạt 0,3 μm và đầu nối với phễu.

• Từ kết quả đo tốc độ gió thổi xuống bề mặt làm việc và tốc độ gió hút vào tủ để tính toán ra lưu lượng ( $Q = V \times S$ ) [m<sup>2</sup>/h].

• Từ kết quả tính toán lưu lượng trên xác định được lưu lượng gió phía trước từng bộ lọc HEPA/ULPA làm căn cứ để điều chỉnh lưu lượng máy tạo PAO của hãng TSI theo bảng dưới đây (trích từ tài liệu hướng dẫn sử dụng máy tạo PAO của hãng TSI)

particle concentration in total flow	Requested particle concentration in test aerosol, partikles/m <sup>3</sup>		
	300 x 10 <sup>6</sup> Particle/m <sup>3</sup>	400 x 10 <sup>6</sup> Particle/m <sup>3</sup>	1000 x 10 <sup>6</sup> Particle/m <sup>3</sup>
Flow rate Equipment, m <sup>3</sup> /h	Flow rate ATM l/h	Flow rate ATM l/h	Flow rate ATM l/h
50	68	73	100
100	83	92	128
200	107	119	149
300	123	135	158
400	135	144	181
500	142	149	217
600	147	152	248
700	150	156	
800	152	161	
900	155	170	
1000	158	181	
1250	173	217	
1500	198	248	
1600	209	250	
1700	221		
1800	232		
1900	241		
2000	248		

+Xác định được lượng hạt PAO phía trước HEPA/ULPA từ bảng trên [hạt/m<sup>3</sup>]

+Tiến hành chạy máy tạo PAO của TSI và quét bộ lọc HEPA/ULPA của tủ. Quét toàn bộ bộ lọc theo đường ziczac ở khoảng cách không quá 2,5 cm so với bề mặt bộ lọc và ở tốc độ không lớn hơn 5 cm/s:

+Trong quá trình quét nếu có bất kỳ vị trí nào mà lượng hạt đếm được tăng cao (lớn hơn 10 hạt), dừng phễu dừng lại tại vị trí tăng cao đó trong vòng 60s để xác định lượng hạt rò rỉ sau bộ lọc (bằng lưu lượng máy đếm hạt x 60s).

+Từ đó tính toán ra % rò rỉ và ghi vào biên bản và đánh dấu vị trí rò rỉ vượt quá giới hạn cho phép.

+Giới hạn rò rỉ cho phép đối với các bộ lọc HEPA/ULPA có thể quét được là 0,01% và là 0,005% với các bộ lọc không thể quét được.

+Khi sử dụng máy tạo hạt PAO và nhớ của máy quét HEPA/ULPA (photometer) của hãng ATI để thử nghiệm.

- Đầu nối máy tạo PAO

- Từ kết quả đo tốc độ gió thổi xuống bề mặt làm việc và tốc độ gió hút vào tủ để tính toán ra lưu lượng ( $Q = V \times S$ ) [m<sup>2</sup>/s]

- Từ kết quả tính toán lưu lượng trên xác định được lưu lượng gió phía trước từng bộ lọc HEPA/ULPA làm căn cứ để điều chỉnh máy tạo PAO của hãng ATI theo công thức dưới đây (trích từ tài liệu hướng dẫn sử dụng máy tạo PAO của hãng ATI):

- $PAO = 1,59 \times Jet / Q$  [μg/l]

- Máy tạo hạt PAO của hãng ATI có chế độ Jet = 2 hoặc Jet = 6 để điều chỉnh sao cho PAO <sup>3</sup> 10 μg/l.

- Sau khi xác định và cài đặt xong máy tạo PAO của hãng ATI. Nhập giá trị PAO

*Xuân* *Minh*



tính được ở trên vào bộ nhớ của máy quét HEPA/ULPA như một lượng hạt phía trước bộ lọc .

- Tiếp tục cài đặt vào bộ nhớ của máy quét giới hạn phát hiện rò rỉ là 0,01% với những bộ lọc HEPA/ULPA có thể quét được và là 0,005% với những bộ lọc không thể quét được.

- Cài đặt máy quét HEPA/ULPA sang chế độ quét, dùng phễu của photometer để scan bề mặt bộ lọc để phát hiện rò rỉ. % rò rỉ được máy tự tính toán và hiển thị ra màn hình của máy đo, nhân viên thực hiện chỉ việc ghi vào biên bản và đánh dấu vị trí rò rỉ vượt quá giới hạn cho phép (nếu có).

- Tiến hành quét toàn bộ bộ lọc theo đường ziczac ở khoảng cách không quá 2,5 cm so với bề mặt bộ lọc và ở tốc độ không lớn hơn 5 cm/s:

- Thử nghiệm hình thái dòng khí

- +Sử dụng máy tạo khói, hoặc tuýp tạo khói để kiểm tra hướng dòng khí. Đối với tủ ATSH cấp II phải thử nghiệm đầy đủ cả 4 bước dưới đây:

- B1-bảo vệ nhiễm chéo: nhả khói từ bên trái qua bên phải, dọc theo đường trung tâm của bề mặt thao tác, ở độ cao 10 cm so với mép dưới của kính chắn. Chỉ tiêu này đạt khi: khói đi xuống mượt, không có điểm chết, không có dòng khói đi lên.

- B2-bảo vệ người: nhả khói từ bên trái qua bên phải, phía sau và cách tấm kính 2,5 cm ở độ cao 15 cm so với mép dưới của kính. Chỉ tiêu này đạt khi: khói đi xuống mượt mà, không có điểm chết, không có dòng khói đi lên, không có khói đi ra ngoài tủ.

- B3-bảo vệ mẫu: nhả khói phía ngoài, dọc theo và cách biên cửa vào khoảng 4 cm. Đặc biệt chú ý tại các góc và biên của cạnh dọc. Chỉ tiêu này đạt khi: Khói không bị kéo ngược trở lại bên ngoài sau khi hướng vào, khói không đi vào trong bề mặt làm việc.

- B4-độ kín cửa: nhả khói từ dưới lên, phía trong cửa kính và cách các cạnh biên của kính 5 cm và dọc theo đỉnh của kính chắn. Chỉ tiêu này đạt khi: không có khói đi ra ngoài tủ.

- +Đối với tủ ATSH cấp I, III chỉ thực hiện thử nghiệm bước 2 và bước 4 đã nêu ở trên.

- +Đối với tủ cấy sạch, Clean Bench: chỉ thực hiện thử nghiệm bước 1, 3 và bước 4 đã nêu ở trên.

- +Kết quả đánh giá được ghi lại vào biên bản.

- Đo độ ồn của tủ

- +Sử dụng máy đo độ ồn để tiến hành thử nghiệm.

- +Tắt tủ và đèn của tủ để đo độ ồn nền.

- +Điều chỉnh giá sao cho cảm biến có vị trí cũng như cao độ đúng như đã mô tả tại mục 10.2.2.3.4.

- +Cài đặt máy đo độ ồn ở chế độ A-weight. Tiến hành đo, chờ thiết bị ổn định giá trị và ghi vào biên bản.

- +Bật tủ và đèn của tủ để đo độ ồn của tủ.
  - +Điều chỉnh giá sao cho cảm biến có vị trí cũng như cao độ đúng như đã mô tả tại mục 10.2.2.3.4.
  - +Cài đặt máy đo độ ồn ở chế độ A-weigh. Tiến hành đo, chờ thiết bị ổn định giá trị và ghi vào biên bản.
  - +Chỉ tiêu này phải tiến hành đo lặp lại 3 lần và ghi vào biên bản.
  - Đo độ rọi bề mặt làm việc của tủ
  - +Sử dụng máy đo độ rọi để tiến hành thử nghiệm.
  - +Kết nối cảm biến vào thân máy, bật máy và chọn dải đo ở chế độ (Auto) cho máy trước khi tiến hành đo
  - +Tắt tủ, tắt đèn của tủ. Tiến hành đo lần lượt tại các vị trí. Tại mỗi vị trí đo, sau khi đặt cảm biến, chờ thiết bị đo ổn định giá trị và ghi vào biên bản.
  - +Bật tủ, bật đèn của tủ. Tiến hành đo lặp tại các vị trí như trên và cũng ghi vào biên bản.
  - +Chỉ tiêu này phải tiến hành đo lặp lại 3 lần và ghi vào biên bản.
  - Đo cường độ ánh sáng tím
  - +Sử dụng máy đo cường độ ánh sáng tím để thử nghiệm.
  - +Kết nối cảm biến vào thân máy, bật máy và chọn dải đo ở chế độ (Auto) cho máy trước khi tiến hành đo
  - +Tiến hành đo lần lượt tại 3 vị trí. Tại mỗi vị trí đo, sau khi đặt cảm biến, chờ thiết bị đo ổn định giá trị và ghi nhận vào biên bản.
  - +Chỉ tiêu này phải tiến hành đo lặp lại 3 lần và ghi vào biên bản.
- d) Bước 4: Bàn giao thiết bị*
- Trả thiết bị về trạng thái hoạt động, cài đặt như ban đầu.
  - Xác nhận tình trạng thiết bị sau khi thử nghiệm với khách hàng theo phiếu Bàn giao thiết bị và giấy chứng nhận
  - Tổng hợp các những phát hiện được trong quá trình thử nghiệm để báo cáo sơ bộ cho khách (nếu có).
  - Khuyến cáo, hướng dẫn cách sử dụng đúng cho khách.
- e) Bước 5: Tính toán kết quả.*
- Kết quả đo tốc độ gió thổi xuống bề mặt làm việc
- Nếu nhà sản xuất tủ có quy định về độ đồng nhất và sai lệch cụ thể thì áp dụng theo nhà sản xuất. Trường hợp nhà sản xuất không quy định thì áp dụng độ đồng nhất  $\leq 25\%$  (hoặc  $\leq 0,081$  m/s tùy cái nào lớn hơn) và sai lệch giữa vận tốc của nhà sản xuất và vận tốc trung bình phải  $\leq 0,025$  m/s.
  - Tính vận tốc trung bình của tất cả các điểm đo



$$\bar{V}_{down} = \frac{V_{down1} + V_{down2} + \dots + V_{downm}}{m}$$

- Trong đó  $V_{down1}$ ,  $V_{down2}$ , ...  $V_{downm}$  là vận tốc gió thổi xuống bề mặt làm việc.

- Tìm giá trị  $V_{down\ max}$ ,  $V_{down\ min}$  trong các điểm đo này. Sau đó áp dụng các công thức sau:

$$E_l = \frac{\bar{V}_{down} - V_{down\ min}}{\bar{V}_{down}} \times 100\%$$

$$E_h = \frac{V_{down\ max} - \bar{V}_{down}}{\bar{V}_{down}} \times 100\%$$

-  $E_l$ ,  $E_h$  phải  $\leq 25\%$  (hoặc theo nhà sản xuất). Đồng thời, sai lệch giữa vận tốc của nhà sản xuất và vận tốc trung bình đo được phải  $\leq 0,025\ m/s$  (hoặc theo nhà sản xuất) thì chỉ tiêu này của tủ đạt.

#### Kết quả đo vận tốc dòng khí hút vào tủ

- Nếu nhà sản xuất tủ có quy định về tốc độ dòng khí hút vào tủ thì sử dụng thông số đó để đánh giá (tốc độ dòng khí đo được phải nằm trong dải quy định của nhà sản xuất).

- Trường hợp nhà sản xuất không quy định cụ thể thì ta sử dụng thông số về tốc độ gió đã nêu ở Bảng 1 đối tượng áp dụng ở mục 2 của tài liệu này.

- Các bước tính toán tương ứng với từng phương pháp đo như sau:

+ Tính toán theo phương pháp trực tiếp, dùng phễu đo lưu lượng gió

• Tính lưu lượng trung bình của tất cả các kết quả đo:

$$\bar{Q}_{in} = \frac{Q_{in1} + Q_{in2} + \dots + Q_{inm}}{m}$$

• Quy đổi ra vận tốc trung bình bằng cách chia cho  $S_{open}$  (là khoảng mở của cửa làm việc)

• Lấy giá trị này so sánh với quy định của nhà sản xuất hoặc thông số theo bảng 1 để làm căn cứ kết luận (tốc độ gió vào trung bình  $\geq 0,38\ m/s$  hoặc  $\geq 0,51\ m/s$  tùy loại tủ).

+ Tính toán theo phương pháp cửa thường, dùng máy đo tốc độ gió

• Tính vận tốc trung bình của tất cả các điểm đo:

$$\bar{V}_{in} = \frac{V_{in1} + V_{in2} + \dots + V_{inm}}{m}$$

• Lấy giá trị này so sánh với quy định của nhà sản xuất hoặc thông số theo bảng 1 để làm căn cứ kết luận (tốc độ gió vào trung bình  $\geq 0,38\ m/s$  hoặc  $\geq 0,51\ m/s$  tùy loại tủ).



+Tính toán theo phương pháp cửa hẹp, dùng máy đo tốc độ gió

- Tính vận tốc trung bình cửa hẹp của tất cả các điểm đo:

$$\bar{V}_{inc} = \frac{V_{inc1} + V_{inc2} + \dots + V_{incm}}{m}$$

- Nhân vận tốc trung bình cửa hẹp với hệ số điều chỉnh  $F_c$  do hãng cung cấp

$$\bar{V}_{in} = \bar{V}_{inc} \cdot F_c$$

- Lấy giá trị này so sánh với quy định của nhà sản xuất hoặc thông số theo bảng 1 để làm căn cứ kết luận (tốc độ gió vào trung bình  $\geq 0,38$  m/s hoặc  $\geq 0,51$  m/s tùy loại tủ).

+Tính toán theo phương pháp cửa thải, dùng máy đo tốc độ gió

- Tính vận tốc trung bình của tất cả các điểm đo:

$$\bar{V}_{ex} = \frac{V_{ex1} + V_{ex2} + \dots + V_{exm}}{m}$$

- Gọi  $S_{hd}$  là khoảng mở hữu dụng của cửa thải, và  $S_{open}$  là khoảng mở của cửa làm việc, tính vận tốc trung bình của gió hút vào tủ:

$$\bar{V}_{in} = \frac{\bar{V}_{ex} \cdot S_{hd}}{S_{open}}$$

- Lấy giá trị này so sánh với quy định của nhà sản xuất hoặc thông số theo bảng 1 để làm căn cứ kết luận (tốc độ gió vào trung bình  $\geq 0,38$  m/s hoặc  $\geq 0,51$  m/s tùy loại tủ).

Kết quả đo độ ồn

- Lấy kết quả đo độ ồn khi tủ an toàn sinh học không chạy so sánh với giới hạn cho phép là 60 dB.

- Kết quả đo độ ồn khi tủ không chạy  $\leq 60$  dB thì tiếp tục so sánh kết quả đo độ ồn khi tủ hoạt động với giới hạn cho phép là 70 dB để kết luận.

- Kết quả đo độ ồn khi tủ không chạy mà  $> 60$  dB thì phải tra bảng dưới đây để kết luận:

Chênh lệch giữa độ ồn khi thiết bị hoạt động và độ ồn môi trường	Số hiệu chỉnh (*)
0-2	Hạ bớt độ ồn môi trường xuống
3	3
4-5	2
6-10	1
>10	0

*Handwritten signatures and marks at the bottom right of the page.*

<sup>(\*)</sup> lấy giá trị độ ồn đo được khi thiết bị hoạt động trừ đi số này để hiệu chỉnh lại độ ồn của thiết bị (khi hoạt động).

- Nếu kết quả đo (hoặc kết quả đã điều chỉnh)  $\leq 70$  dB là đạt.
- Kết quả đo độ rọi bề mặt làm việc của tủ
- Từ các kết quả đo ánh sáng khi tắt đèn và tắt tủ (độ rọi trung bình nền). Lấy kết quả này so sánh với giới hạn cho phép là 160 lx. Chỉ tiêu này đạt khi:

$$\bar{L}_{off} = \frac{\bar{L}_{off1} + \bar{L}_{off2} + \dots + \bar{L}_{offm}}{m} \leq 160 \text{ lx}$$

- Tính độ rọi trung bình của tủ (khi bật tủ, bật đèn):

$$\bar{L}_{on} = \frac{\bar{L}_{on1} + \bar{L}_{on2} + \dots + \bar{L}_{onm}}{m}$$

- Tính chênh lệch giữa độ rọi trung bình của tủ và nền. Chỉ tiêu này đạt khi:

$$\bar{L}_{on} - \bar{L}_{off} \geq 480 \text{ lx}$$

- Lưu ý: trong trường hợp độ rọi trung bình nền lớn hơn 160 lx ta phải tìm cách giảm sáng.

- Cả 2 chỉ tiêu trên đều phải đạt, căn cứ theo kết quả để khuyến cáo khách hàng thay thế hoặc tiếp tục sử dụng.

- Kết quả đo cường độ ánh sáng tím

- Lấy kết quả thấp nhất (UV/min) ở tất cả các vị trí đo so sánh với giới hạn cho phép là 40  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ .

- Nếu kết quả đo  $\geq 40 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  tiếp tục sử dụng đèn tím. Nếu kết quả đo nhỏ hơn khuyến cáo khách hàng thay thế đèn.

- Ước lượng độ KĐBĐ áp dụng cho các chỉ tiêu sau:

- +Thử nghiệm dòng khí hút vào tủ
- +Thử nghiệm dòng khí xuống
- +Thử nghiệm độ ồn
- +Thử nghiệm độ rọi bề mặt làm việc
- +Thử nghiệm cường độ ánh sáng tím

- Độ KĐBĐ được tính toán như sau:

- +Độ KĐBĐ loại A:

$$u_A = \sqrt{\frac{\sum_1^N S_j^2}{n}}$$

Trong đó:  $S_j$  là độ lệch chuẩn tại điểm đo thứ N, n là số lần đọc tại mỗi điểm đo.

$$S_j = \sqrt{\frac{\sum_1^n (t_i - \bar{t})^2}{(n-1)}}$$

$n$ : số lần đo tại mỗi vị trí;  $t_i$ : lần đo thứ  $i$ ;  $\bar{t}$ : giá trị trung bình tại mỗi vị trí đo

+Độ KĐBĐ loại B: Độ không đảm bảo đo chuẩn được sử dụng để thử nghiệm  $u_B$  được xác định theo công thức:

$$u_B = \frac{U_{std}}{2}$$

Trong đó:  $U_{std}$  là độ KĐBĐ mở rộng của phương tiện dùng để thử nghiệm

+Độ KĐBĐ tổng hợp: Độ KĐBĐ liên hợp  $u_c$  được xác định theo công thức:

$$u_c = \sqrt{u_A^2 + u_B^2}$$

+Độ KĐBĐ mở rộng: Độ không đảm bảo đo mở rộng  $U$  được xác định theo công thức:

$$U = k \cdot u_c$$

Trong đó:  $k$  là hệ số phủ,  $k = 2$  ứng với mức độ tin cậy xấp xỉ 95%

#### 4.1.2. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm
- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định
- Thiết bị sau khi hiệu chuẩn được trả về chế độ cài đặt ban đầu và bàn giao lại thiết bị cho khách hàng.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Đo tốc độ gió vào (chỉ tiêu chính): nếu tốc độ gió vào thấp thì nguy hiểm cho người sử dụng, tốc độ gió vào cao thì có thể không bảo vệ mẫu, ồn, tổn điện,...
- Đo tốc độ gió xuống (chỉ tiêu chính): nếu gió xuống không đồng đều sẽ không bảo vệ nhiễm chéo cho mẫu.
- Thử nghiệm rò rỉ HEPA cấp (chỉ tiêu chính): nếu thử nghiệm này không đạt mẫu không được bảo vệ
- Thử nghiệm rò rỉ HEPA thải (chỉ tiêu chính): nếu thử nghiệm này không đạt thì người sử dụng và môi trường xung quanh không được bảo vệ
- Kiểm tra hình thái dòng khí (chỉ tiêu chính): là chỉ tiêu trực quan để đánh giá mức độ bảo vệ người và mẫu
- Thử nghiệm cường độ ánh sáng tím, độ rọi bề mặt, độ ồn, độ rung, cảnh báo là những chỉ tiêu phụ.
- Tủ chỉ đạt và tiếp tục sử dụng khi tất cả các chỉ tiêu chính đạt. Đối với các chỉ tiêu phụ tùy vào kết quả để khuyến cáo cho khách hàng.

#### 4.3. Trả kết quả

##### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận thử nghiệm.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.



- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả hiệu chuẩn.
- Trả kết quả thử nghiệm cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

- Biểu mẫu Giấy chứng nhận thử nghiệm

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Kiểm tra và đảm bảo rằng thiết bị đang hoạt động bình thường

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Quan sát hoạt động của thiết bị, kịp thời xử lý khi có các hiện tượng bất thường

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Thiết bị sau khi thử nghiệm được trả về chế độ cài đặt ban đầu và bàn giao lại thiết bị cho khách hàng.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm

Không áp dụng.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- NSF/ANSI 49-2016 Biosafety cabinetry: design, construction, performance and field certification. NSF International Standard /American National Standard.

- EN 12469:2000 Biotechnology – Performance criteria for microbiological safety cabinets. EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION.

- Hướng dẫn lựa chọn, lắp đặt và sử dụng tủ ATSH của CDC năm 2000 (Selection, Installation and Use of Bio Safety Cabinets 2nd Edition).

- Tiêu chuẩn quốc tế về phòng sạch và các thiết bị kiểm soát môi trường (ISO 14644-3 :2015 Cleanrooms and associated controlled environments).

- Tài liệu vận hành máy tạo hạt: của hãng TSI model 3079; hãng ATI model 6D.

- Tài liệu vận hành máy quét HEPA: của hãng ATI model 2i.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 289:  
**THỬ NGHIỆM HEPA**

## 1. ĐẠI CƯƠNG

### 1.1. Mục đích

Quy trình này quy định phương pháp, điều kiện thử nghiệm, thu thập dữ liệu, tính toán xử lý kết quả, công bố kết quả thử nghiệm rò rỉ HEPA, phương tiện, nội dung và trình tự thử nghiệm rò rỉ của bộ lọc HEPA để đảm bảo việc thử nghiệm luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

### 1.2. Định nghĩa

#### 1.2.1. Giải thích từ ngữ

Không áp dụng.

#### 1.2.2. Từ viết tắt

- HEPA: High Efficiency Particulate Air (Bộ lọc không khí hiệu suất cao).
- HDSD: Hướng dẫn sử dụng
- PAO: Poly Alpha Olefin (dung dịch tạo hạt).
- QLCL: Quản lý chất lượng
- QLKT: Quản lý kỹ thuật
- KĐBĐ: Không đảm bảo đo

### 1.3. Nguyên lý

Thử nghiệm rò rỉ HEPA được thực hiện bằng cách đưa vào phía trước HEPA một lượng lớn hạt bụi kích thước 0.3 $\mu$ m (số lượng xác định được thông qua máy quét HEPA) và tiến hành quét ngay dưới màng lọc và các vị trí liên kết giữa màng lọc với hệ thống nâng đỡ hoặc trong đường ống gió sau HEPA, từ đó xác định được % rò rỉ.

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

### 2.2. Vật tư

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

Không áp dụng

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Dầu PAO (Poly Alpha Olefin)
- Găng tay không bột các kích cỡ.
- Văn phòng phẩm: bút, giấy A4, mực in, ghim kẹp.

Bảo quản sinh phẩm, hoá chất theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Máy đếm hạt (PC1) hoặc tương đương
- Máy Photometer hoặc tương đương
- Máy tạo hạt PAO hoặc tương đương
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm, áp suất hoặc tương đương
- Các thiết bị phụ trợ: thang, giá đỡ...

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Chỉ thực hiện việc thử nghiệm khi khách hàng đã bàn giao thiết bị cho nhân viên thử nghiệm.

- Trước khi tiến hành đo cần phải xác định được các nguồn gây nhiễu có thể ảnh hưởng tới kết quả đo, loại bỏ và hạn chế tối đa các nguồn gây nhiễu này.

#### 2.4.2. Xác định chỉ tiêu thử nghiệm

Không áp dụng

#### 2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng

Không áp dụng

### 2.5. Phiếu chỉ định thử nghiệm

Không áp dụng

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 3 giờ

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại sơ sở

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

a) *Bước 1: Chuẩn bị thử nghiệm*



- Đối với đối tượng thử nghiệm:
  - + Trước HEPA: Kiểm tra vị trí để cho hạt PAO vào trước HEPA. Kiểm tra vị trí để kết nối máy đếm hạt.
  - + Sau HEPA: Tháo các lớp chắn bảo vệ, bộc lộ bề mặt HEPA.
  - + Vận hành đối tượng.
- Đối với thiết bị đo, thử nghiệm:
  - + Kiểm tra pin, các phụ kiện đi kèm.
  - + Kiểm tra thời hạn hiệu chuẩn, các thiết bị chỉ được sử dụng khi cách lần hiệu chuẩn gần nhất dưới 1 năm.
- Điều kiện đọc và ghi dữ liệu: Khi tiến hành đo luôn nhớ chờ cho giá trị hiển thị ở thiết bị ổn định mới đọc. Việc ghi dữ liệu vào biên bản thử nghiệm.

*b) Bước 2: Xác định lượng hạt phía trước bộ lọc*

- Với hệ máy đếm hạt:
  - + Cài đặt máy đếm hạt đo ở cỡ hạt 0,3  $\mu\text{m}$  và đầu nối với phễu..
  - + Từ kết quả đo hoặc tính toán lưu lượng trên xác định được lưu lượng gió phía trước bộ lọc HEPA/ULPA làm căn cứ để điều chỉnh lưu lượng máy tạo PAO của hãng TSI theo bảng ở Hình 1 (trích từ tài liệu HDSD máy tạo PAO của hãng TSI).
  - + Xác định được lượng hạt PAO phía trước HEPA/ULPA từ bảng dưới  $P_{inf}$  [hạt/ $\text{m}^3$ ].

particle concentration in total flow	Requested particle concentration in test aerosol, partikles/ $\text{m}^3$		
	300 x 10 <sup>6</sup> Particle/ $\text{m}^3$	400 x 10 <sup>6</sup> Particle/ $\text{m}^3$	1000 x 10 <sup>6</sup> Particle/ $\text{m}^3$
Flow rate Equipment, $\text{m}^3/\text{h}$	Flow rate ATM l/h	Flow rate ATM l/h	Flow rate ATM l/h
50	68	73	100
100	83	92	128
200	107	119	149
300	123	135	158
400	135	144	181
500	142	149	217
600	147	152	248
700	150	156	
800	152	161	
900	155	170	
1000	158	181	
1250	173	217	
1500	198	248	
1600	209	250	
1700	221		
1800	232		
1900	241		
2000	248		

Hình 1.

- Với hệ máy photometer và sử dụng phương pháp tính toán theo lưu lượng gió:
  - + Lưu ý: phương pháp này thường được sử dụng khi phía trước bộ lọc có nguy cơ sinh học hoặc tác nhân gây bệnh

*Sua*

*ma*

+ Sử dụng kết quả đo lưu lượng gió ở trên và sử dụng công thức tính toán lượng PAO do hãng cung cấp để tính ra lượng PAO phía trước HEPA:

+ Cụ thể với máy tạo hạt ATI model 6D thì công thức tính là

$$PAO = 1,59 \times Jet / Q \text{ } [\mu\text{g/l}]$$

với  $Q$  là lưu lượng gió phía trước HEPA [ $\text{m}^3/\text{s}$ ].

$Jet$  là số chọn trên máy tạo hạt (2 hoặc 6).

+ Chọn số  $Jet$  sao cho lượng PAO ( $1 \div 100$ )  $\mu\text{g/l}$

+ Nhập lượng PAO này vào máy photometer

- Với hệ máy photometer và sử dụng phương pháp đo upstream.

+ Lưu ý: chỉ sử dụng phương pháp đo upstream khi phía trước bộ lọc không có nguy cơ sinh học hay tác nhân gây bệnh

+ Cài photometer ở chế độ đo upstream. Vận hành máy để ghi nhận lượng PAO phía trước bộ lọc.

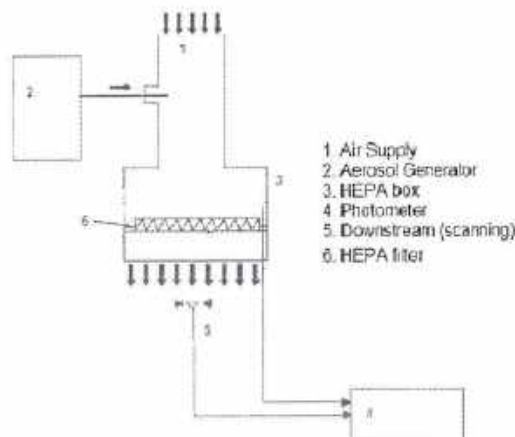
+ Nếu lượng PAO phía trước bộ lọc  $< 1 \mu\text{g/l}$  hoặc  $> 100 \mu\text{g/l}$  thì điều chỉnh lại máy tạo PAO hoặc xem xét lại điểm tạo PAO với khách.

+ Khi lượng PAO đã đủ cho máy photometer ghi nhận lượng PAO này vào bộ nhớ đệm của máy.

*c) Bước 3: Xác định lượng hạt phía sau bộ lọc*

- Với hệ máy đếm hạt:

+ Tiến hành chạy máy tạo hạt PAO của TSI, đưa hạt vào phía trước bộ lọc (Hình 2)



Hình 2: sơ đồ mô phỏng việc kiểm tra HEPA

+ Bật máy đếm hạt và cài đặt các thông số cho thiết bị.

+ Đặt miệng phễu cách bề mặt HEPA khoảng 2,5 cm, người kiểm tra quét trên bề mặt HEPA (xem Hình 3), bao gồm cả phần xung quanh của bộ lọc, bằng cách di chuyển phễu của máy đếm hạt, để một phần của phễu ra ngoài bộ lọc. Người kiểm tra đồng thời quét toàn bộ phần ngoại biên của bộ lọc và tại các vị trí ghép nối giữa bộ lọc và hệ thống giá đỡ ở tốc độ quét không vượt quá 5 cm/s





+ Tại vị trí có bất thường (lượng hạt thu được tăng đột biến) dừng lại tại vị trí đó và quét trong khoảng 60 giây (t), ta thu được lượng hạt là  $P_{beh}$  theo công thức:

$$P_{beh} = q_{máy} \times 60 \text{ giây}$$

+ Từ đó tính ra % rò rỉ của HEPA, ULPA:

$$HEPA_{loss} = \frac{P_{beh}}{P_{inf}} \times 100\%$$

Trong đó  $P_{beh}$  là số số Pao tạo ra phía trước HEPA,  $P_{inf}$  số lượng Pao quét được phía sau HEPA.

- Với hệ máy photometer:

Với photometer máy đã tự tính toán ra % rò rỉ vào so sánh với giới hạn mà kỹ thuật viên quy định nên không cần phải tính toán mà phải ghi lượng rò rỉ này vào Biên bản thử nghiệm.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Giới hạn rò rỉ đối với những bộ lọc HEPA, ULPA có thể tiếp cận trực tiếp để quét là: 0,01%.

- Giới hạn rò rỉ đối với những bộ lọc HEPA, ULPA không thể tiếp cận trực tiếp để quét là: 0,005%.

- Giới hạn rò rỉ đối với những bộ lọc cụ thể khách sẽ căn cứ theo tiêu chuẩn cụ thể hoặc theo yêu cầu của khách hàng

- HEPA, ULPA đạt khi % rò rỉ (tính toán hoặc quét được) nhỏ hơn giới hạn cho phép ở trên.

- Chi tiết căn cứ đánh giá kết quả xem bản dưới đây:

TT	Chỉ tiêu thử nghiệm	Phạm vi đo/ Giới hạn phát hiện	Tiêu chuẩn/Tài liệu tham chiếu
1	Thử nghiệm HEPA	Giới hạn cho phép là 0,01 % và 0,005%	NSF/ANSI 49-2019
2	Thử nghiệm HEPA	Giới hạn cho phép là 0,01 % và 0,1%	ISO14644-3:2015

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận thử nghiệm.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả hiệu chuẩn.

- Trả kết quả thử nghiệm cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Biểu mẫu Giấy chứng nhận thử nghiệm

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Xác định chính xác vị trí tạo hạt, cố định chắc chắn đường ống.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Trong quá trình quét nếu phát hiện có rò rỉ lớn hơn mức cho phép cần quét kỹ lại trước khi kết luận

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

#### 6.1. Nội kiểm

Không áp dụng.

#### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Tiêu chuẩn quốc tế về phòng sạch ISO14644-3:2005: Test methods

- Tiêu chuẩn quốc gia về kiểm tra tủ an toàn sinh học của Mỹ: NSF/ANSI 49-2016 (Biosafety cabinetry: design, construction, performance and field certification).

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 290:  
THỬ NGHIỆM LƯU LƯỢNG GIÓ**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này quy định phương pháp, phương tiện, nội dung và trình tự đo lưu lượng gió tại các cửa cấp, thải khí để đảm bảo việc thử nghiệm thông gió luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

### **1.2. Định nghĩa**

#### 1.2.1. Giải thích từ ngữ

Không áp dụng.

#### 1.2.2. Từ viết tắt

- HDSD: Hướng dẫn sử dụng
- QLKT: Quản lý kỹ thuật
- QLCL: Quản lý chất lượng

### **1.3. Nguyên lý**

Đo tốc độ dòng không khí đi vào hoặc đi ra khỏi đối tượng (cửa cấp hoặc cửa thải), từ đó xác định được lưu lượng gió.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

### **2.2. Vật tư**

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

Không áp dụng.

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Pin AA.
- Găng tay không bột các kích cỡ, khẩu trang
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, ghim kẹp

Bảo quản sinh phẩm, hoá chất theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.



**2.3. Thiết bị**

- Máy đo lưu lượng gió
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm, áp suất.

**2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu****2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận**

Không áp dụng

**2.4.2. Xác định chỉ tiêu thử nghiệm**

Không áp dụng

**2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng**

Không áp dụng

**2.5. Phiếu chỉ định thử nghiệm**

Không áp dụng

**2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 2 giờ

**2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Tại sơ sở

**3. AN TOÀN**

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

**4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH****4.1. Các bước thực hiện****4.1.1. Thực hiện kỹ thuật***a) Bước 1: Chuẩn bị thử nghiệm*

- Chỉ thực hiện việc thử nghiệm khi hệ thống phòng sạch khi đang hoạt động bình thường và khách hàng đã bàn giao cho nhân viên thực hiện.

- Cần vận hành đối tượng đo trước khi đo từ 5 phút đến 60 phút, tùy thuộc vào hệ thống. Quá trình vận hành trước này giúp hệ thống vận hành ổn định, lưu lượng ổn định, kết quả đo sát với thực tế hơn.

- Đối với thiết bị đo, thử nghiệm

+ Kiểm tra pin, các phụ kiện đi kèm

+ Kiểm tra thời hạn hiệu chuẩn, các thiết bị chỉ được sử dụng khi còn hạn hiệu chuẩn

- Điều kiện đo: Trước khi tiến hành đo cần phải xác định được các nguồn gây nhiễu có thể ảnh hưởng tới kết quả đo, loại bỏ và hạn chế tối đa các nguồn gây nhiễu này

- Điều kiện đọc và ghi dữ liệu: Khi tiến hành đo luôn nhớ chờ cho giá trị hiển thị ở thiết bị ổn định mới đọc. Việc ghi dữ liệu vào biên bản thử nghiệm được quy định ở

*Xuan* *am*

dưới cho từng chỉ tiêu thử nghiệm. Ghi lại nhiệt độ không khí mỗi lần ghi nhận lưu lượng

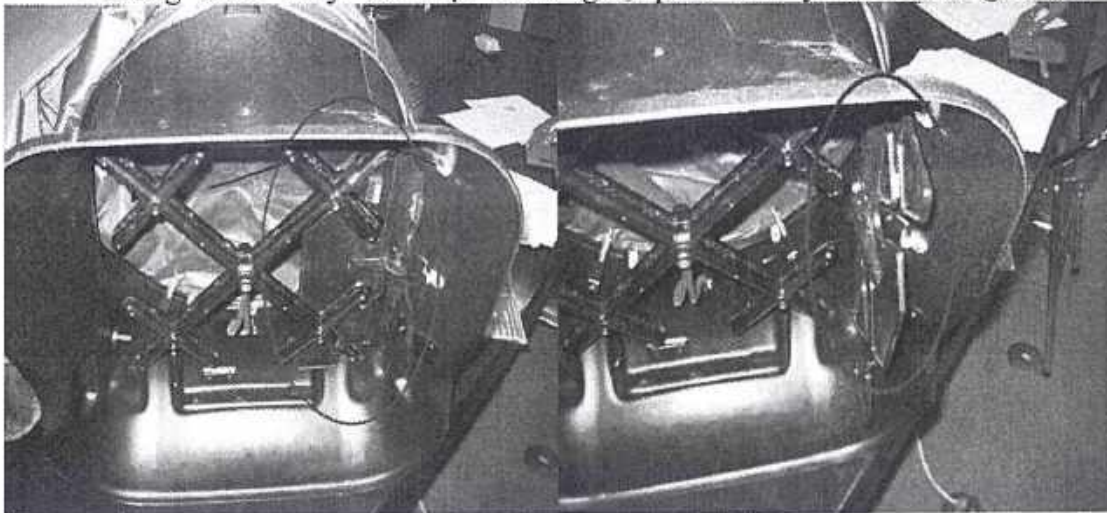
*b) Bước 2: Lắp đặt và cài đặt thiết bị đo*

Theo hướng dẫn của nhà sản xuất

*c) Bước 3: cách đo*

- Sau khi lắp và cài đặt xong thiết bị, chụp đầu to của phễu vào cửa gió cần đo. Lưu ý là viền của phễu phải khít với vách có cửa gió, không để gió đi từ phễu ra ngoài và ngược lại.

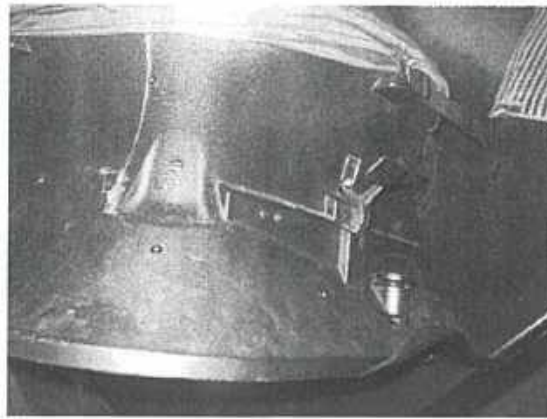
- Trong thân máy có một cánh gió, phải lưu ý để cánh gió mở hết cỡ



Nếu cánh gió không mở, thiết bị sẽ báo như hình dưới



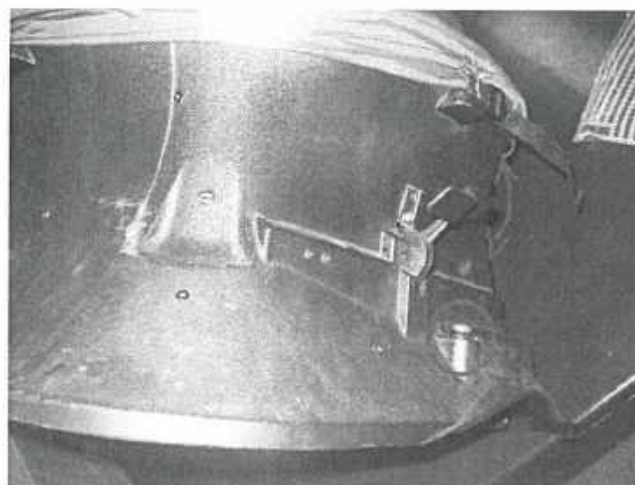
+ Cách mở cánh gió là trực tiếp dùng tay cầm vào cánh gió để mở ra hoặc đưa cần gạt bên cạnh thân máy lên hết cỡ như hình dưới.



+ Trong trường hợp các cửa gió không ở trên vách, dẫn đến khung phễu không thể khít thì cần tháo khung và cố định ra, dùng tay cầm phễu vải bao quanh ống gió sao cho gió đi qua phễu như một thành phần của ống gió.



+ Trong trường hợp các cửa gió ở vị trí đặc biệt dẫn đến người đo phải nhắc thiết bị lên cao hoặc ở vị trí không thể quan sát màn hình của thiết bị để theo dõi kết quả, người đo có thể sử dụng nút "Hold" để giữ nguyên kết quả đo tại thời điểm ấn nút sau đó đưa thiết bị về vị trí dễ quan sát để đọc kết quả. Nút "Hold" được khoanh tròn trong hình dưới.



d) Bước 4: Đọc kết quả



- Kết quả hiển thị rất dễ quan sát trên màn hình, như ở hình dưới là 121 m<sup>3</sup>/h.



- Cần lưu ý dấu trừ phía trước số "121". Nếu không có dấu nghĩa là gió theo chiều thổi từ cửa gió qua miệng phễu, đi qua thân máy rồi ra ngoài (gió cấp), nếu có dấu trừ nghĩa là chiều gió đi từ thân máy, qua phễu rồi vào cửa gió (gió thải)

#### e) Bước 5: Tính toán kết quả

Nhân viên thực hiện sử dụng dữ liệu để tính, Dựa trên kết quả đo lưu lượng gió tại cửa gió có thể tính toán thêm các thông số sau:

- Tổng lưu lượng gió cấp vào hoặc thải ra trong phòng
- Số lần trao đổi không khí trong phòng trong một giờ
- + Số lần trao đổi không khí (ACH) =  $V_{air} / V_{room}$
- + Trong đó .

$V_{air}$ : là tổng lưu lượng gió cấp hoặc thải trong phòng, đơn vị m<sup>3</sup>/h

$V_{room}$ : Thể tích phòng, đơn vị m<sup>3</sup>

## 4.2. Nhận định kết quả

Tùy theo yêu cầu của khách hàng, có thể công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn theo Quy trình công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn, thử nghiệm

## 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận thử nghiệm.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả hiệu chuẩn.
- Trả kết quả thử nghiệm cho khách hàng.

### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

- Biểu mẫu Giấy chứng nhận thử nghiệm

### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

## **5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật**

Không áp dụng

### **5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật**

Không áp dụng

### **5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

Không áp dụng

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

### **6.1. Nội kiểm**

Không áp dụng.

### **6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng**

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Tiêu chuẩn quốc tế về phòng sạch ISO 14644-3:2005: Test methods of sterilization.

- Hướng dẫn sử dụng phễu đo lưu lượng gió của hãng TSI/Mỹ.



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 291:  
THỬ NGHIỆM PHÒNG SẠCH**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, điều kiện thử nghiệm, trình tự, tính toán, công bố kết quả thử nghiệm nôi hấp tiệt trùng nhằm đảm bảo việc thử nghiệm luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Không áp dụng.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- HEPA: High Efficiency Particulate Air (bộ lọc không khí hiệu suất cao)
- ULPA: Ultra Low Penetration Air (bộ lọc không khí hiệu suất cực cao)
- ACH: Air changes per hour (bội số trao đổi không khí)
- QLCL: Quản lý chất lượng
- QLKT: Quản lý kỹ thuật
- KCTB: Kiểm chuẩn thiết bị
- KĐBĐ: Không đảm bảo đo

### **1.3. Nguyên lý**

Phòng sạch nói chung có nhiệm vụ bảo vệ người hoặc mẫu đang được sử dụng trong phòng. Phòng sạch tạo ra một môi trường không khí có độ sạch, nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng nhất định, phù hợp với mục đích sử dụng. Do đó, việc thử nghiệm phòng sạch nhằm kiểm tra các đặc tính đó.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

### **2.2. Vật tư**

#### **2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất**

Không áp dụng.



### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Găng tay không bột các kích cỡ
- Văn phòng phẩm: bút, giấy A4, mực in, ghim kẹp
- Dung dịch PAO (Poly Anpha Olefin)
- Băng dính chuyên dụng 3M
- Nilon chuyên dụng 3M
- Pin AA

Bảo quản sinh phẩm, hoá chất theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Máy đếm hạt hoặc tương đương
- Máy tạo hạt/phun hạt thử rò rỉ HEPA hoặc tương đương
- Thiết bị kiểm tra độ rò rỉ của màng lọc HEPA hoặc tương đương
- Máy đo tốc độ gió hoặc tương đương
- Phễu đo lưu lượng gió hoặc tương đương
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm, áp suất.

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Chỉ thực hiện việc thử nghiệm khi khách hàng đã bàn giao mặt bằng và vị trí thử nghiệm cho nhân viên thử nghiệm.
- Hệ thống phòng sạch phải đang trong trạng thái hoạt động bình thường, vận hành phòng sạch tối thiểu 24 giờ trước khi tiến hành thử nghiệm.
- Nắm rõ quy trình ra vào phòng sạch thông qua sự hướng dẫn của khách hàng.

#### 2.4.2. Xác định chỉ tiêu thử nghiệm

Căn cứ theo hợp đồng hoặc văn bản thỏa thuận để xác định các chỉ tiêu cần đo đạc cũng như số điểm lấy mẫu.

#### 2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng

Không áp dụng

### 2.5. Phiếu chỉ định thử nghiệm

Không áp dụng

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 39 giờ (áp dụng cho phòng sạch có diện tích đến 15m<sup>2</sup>)

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại sơ sở

### 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Thực hiện kỹ thuật

##### a) Bước 1: Chuẩn bị thử nghiệm

- Để ổn định và đảm bảo kết quả đo chính xác, phòng sạch cần được vận hành ổn định ít nhất 2 tiếng trước khi tiến hành đo, thử nghiệm.

- Điều kiện đo: Trước khi tiến hành đo cần phải xác định được các nguồn gây nhiễu có thể ảnh hưởng tới kết quả đo, loại bỏ và hạn chế tối đa các nguồn gây nhiễu này.

- Dùng băng dính giấy để đánh dấu các vị trí lấy mẫu như đã quy định.

- Điều kiện đọc và ghi dữ liệu: Khi tiến hành đo luôn nhớ chờ cho giá trị hiển thị ở thiết bị ổn định mới đọc. Việc ghi dữ liệu vào biên bản thử nghiệm sẽ được quy định ở dưới cho từng chỉ tiêu thử nghiệm.

##### b) Bước 2: Xác định số lượng điểm đo, lấy mẫu, vị trí đo

- Đối với thử nghiệm đo nồng độ bụi, nhiệt độ, độ ẩm:

+ Số điểm lấy mẫu và vị trí lấy mẫu (gồm cả cao độ), thể tích lấy mẫu đã phải làm rõ với khách hàng trong quá trình thương thảo hợp đồng. Thông thường:

+ Số điểm lấy mẫu tối thiểu được quy định trong bảng A.1, mục A.4, ISO 14644-1:2015.

Table A.1 — Sampling locations related to cleanroom area

Area of cleanroom (m <sup>2</sup> ) less than or equal to	Minimum number of sampling locations to be tested (N <sub>s</sub> )
2	1
4	2
6	3
8	4
10	5
24	6
20	7
32	8
36	9
52	10
56	11
64	12
68	13
72	14
76	15
104	16
108	17
136	18
148	19
170	20
192	21
232	22
270	23
302	24
436	25
636	26
1 000	27
≥ 1 000	See Formula (A.1)

NOTE 1: If the calculated area falls between two values in the table, the greater of the two should be used.

NOTE 2: In the case of multi-level airflows, the area may be considered as the sum of the areas of the sampling air passages above the direction of the airflow. In all other cases, the area may be considered as the horizontal plane area of the cleanroom or cleanroom.

+ Các điểm lấy mẫu phải nằm trên cùng mặt bằng cắt ngang (có cùng độ cao).

Thông thường các điểm lấy mẫu có thể lựa chọn độ cao ngang với mặt bàn làm việc (90-100cm tính từ mặt sàn).

+ Lượng không khí cần thiết cho mỗi lần lấy mẫu: thể tích không khí (lít) tối thiểu khi lấy mẫu phụ thuộc vào cấp độ phòng sạch được đánh giá và được tính theo công thức sau:

$$V_s = 20.000/C.mn$$

Trong đó:

- $V_s$ : thể tích không khí cần khi lấy mẫu (ít nhất là 2 lít).
  - $C.mn$ : số lượng hạt lớn nhất được quy định trong từng tiêu chuẩn (thường là hạt có kích thước nhỏ nhất).
- + Ví dụ theo tiêu chuẩn của WHO thì với cấp độ sạch A thì thể tích lấy mẫu là 1.000 lít; B là 690 lít; C là 7 lít và D là 2 lít.
- Đối với thử nghiệm rò rỉ HEPA/ULPA
  - + Số lượng bộ lọc HEPA, ULPA đã phải làm rõ với khách hàng trong quá trình thương thảo hợp đồng.
  - + Vị trí, cao độ của bộ lọc HEPA, ULPA đã được khách hàng cung cấp thông qua bản vẽ hoặc hình thức tương tự.
  - Đối với thử nghiệm thông gió
  - + Số lượng miệng gió cấp, thải khí của phòng đã phải làm rõ với khách hàng trong quá trình thương thảo hợp đồng.
  - + Khách hàng cũng đã cung cấp thông số thiết kế của từng miệng gió cấp, thải khí.

*c) Bước 3: Đo nồng độ bụi (đếm tiểu phân)*

- Cài đặt máy đếm hạt:
- + Thời gian chờ (hold): là thời gian máy đếm hạt khởi động, thường là 1 phút.
- + Thời gian máy đếm hạt chạy: theo hợp đồng hoặc biên bản thỏa thuận với khách.
- + Cài đặt số thứ tự của mẫu và đánh dấu vào biên bản thử nghiệm.
- + Cài đặt cho phép in kết quả ngay.
- Tiến hành đo lần lượt đủ số mẫu, tại các vị trí đã đánh dấu trong phòng và ghi vào biên bản thử nghiệm kết quả đó (được chép lại từ kết quả in ra từ máy đếm hạt).

*d) Bước 4: Thử nghiệm rò rỉ HEPA/ULPA*

- Phép thử nghiệm này được thực hiện theo quy trình thử nghiệm rò rỉ HEPA
- Tiến hành đo lần lượt đủ số HEPA đã nêu trong hợp đồng hoặc biên bản thỏa thuận với khách hàng.
- Kết quả ghi chép đầy đủ vào biên bản thử nghiệm

*d) Bước 5: Đo lưu lượng gió*



- Sử dụng phễu đo lưu lượng gió theo hướng dẫn sử dụng để đo lưu lượng gió từ các cửa cấp, thải của phòng. Với phòng áp suất dương thì đo cửa gió cấp, phòng áp suất âm thì đo lưu lượng cửa gió thải.

- Lựa chọn phễu đo lưu lượng gió phù hợp: sao cho cửa gió nằm lọt trong phễu đo, đồng thời phễu đo luôn luôn phải vuông góc và được ép chặt vào bề mặt phẳng của cửa gió.

- Ghi chép lại kết quả ổn định vào biên bản thử nghiệm, lưu ý trong quá trình đo không được mở cửa phòng

*e) Bước 6: Đo nhiệt độ và độ ẩm phòng*

- Mục đích của phép thử nghiệm này là để đánh giá khả năng điều khiển và duy trì nhiệt độ, độ ẩm của hệ thống điều hòa đáp ứng được khoảng giới hạn mong muốn.

- Đặt máy đo nhiệt độ, độ ẩm, áp suất tại các vị trí đã đánh dấu.

- Quá trình đo nhiệt độ cần duy trì ít nhất 1 giờ và phải ghi lại kết quả cứ 6 phút/lần. Lưu ý hạn chế ra vào nhiều trong quá trình đo.

- Máy đo nhiệt độ độ ẩm có chế độ tự ghi vào thẻ nhớ, tuy nhiên người đo vẫn phải ghi kết quả vào biên bản thử nghiệm

*f) Bước 4: Tính toán kết quả*

- Thử nghiệm đo nồng độ bụi (đếm tiêu phân)

Đối với từng cấp độ sạch thì sẽ có quy định tương ứng về nồng độ hạt bụi tối đa cho phép theo các tiêu chuẩn phòng sạch của ISO 14644 hay WHO.

+ Các phòng sạch được phân loại theo ISO 14644-1:2015.

Phòng sạch cấp	Số lượng hạt bụi tối đa cho phép trên m <sup>3</sup> không khí					
	0,1 μm	0,2 μm	0,3 μm	0,5 μm	1 μm	5 μm
ISO 1	10	2				
ISO 2	100	24	10	4		
ISO 3	1.000	237	102	35	8	
ISO 4	10.000	2.370	1.020	352	83	
ISO 5	100.000	23.700	10.200	3.520	832	29
ISO 6	1.000.000	237.000	102.000	35.200	8.320	293
ISO 7				352.000	83.200	2.930
ISO 8				3.520.000	832.000	29.300
ISO 9				35.200.000	8.320.000	293.000

- Các phòng sạch được phân loại theo tổ chức WHO – 2012

Phòng sạch cấp	Số lượng hạt bụi tối đa cho phép trên m <sup>3</sup> không khí			
	Trạng thái tĩnh		Trạng thái hoạt động	
	0,5μm	5μm	0,5μm	5μm
<b>A</b>	3.500		3.500	
<b>B</b>	35.000	200	350.000	2.000
<b>C</b>	350.000	2.000	3.500.000	20.000
<b>D</b>	3.500.000	20.000		

- + Căn cứ vào kết quả đo và cấp độ sạch thiết kế của phòng để kết luận.
- + Cấp độ sạch với từng tiêu chuẩn đang hiện hành là có sự khác nhau, do đó cần xác định rõ với khách về tiêu chuẩn áp dụng trong hợp đồng hoặc biên bản thỏa thuận.
- Thử nghiệm lưu lượng gió
  - + Phép thử nghiệm này giúp tính bội số trao đổi không khí của phòng (ACH: Air changes per hour).
  - + ACH được tính theo công thức sau:
 
$$ACH = V_a / V_r \quad (\text{lần/giờ (times per hour)})$$
 Trong đó:
    - $V_a$ : tổng lưu lượng gió cấp (thải) của phòng, đơn vị đo,
    - $V_r$ : thể tích phòng, đơn vị đo.
  - + So sánh ACH thực tế với ACH thiết kế (do khách hàng cung cấp) để đưa ra kết luận đạt hay không (ACH phải nằm trong giới hạn thiết kế thì được kết luận đạt).
- Thử nghiệm rò rỉ HEPA
  - + Từ kết quả đo theo quan trắc góc tại hiện trường xác định rõ các bộ lọc đạt yêu cầu và không đạt yêu cầu trong giấy chứng nhận gửi khách hàng.
  - + Đối với các bộ lọc không đạt yêu cầu cần chỉ rõ vị trí rò rỉ cũng như % rò rỉ tối đa của từng bộ lọc để khách hàng có phương án giải quyết tiếp.
- Thử nghiệm nhiệt độ, độ ẩm phòng
  - + Từ kết quả ghi chép lại về nhiệt độ và độ ẩm của phòng để tính ra giá trị trung bình.
  - + So sánh giá trị trung bình tính được đó với giá trị thiết kế để kết luận (thông số phải nằm trong khoảng thiết kế thì mới được kết luận đạt).

## 4.2. Nhận định kết quả

Tùy theo yêu cầu của khách hàng, có thể công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn theo Quy trình công bố sự phù hợp của kết quả hiệu chuẩn, thử nghiệm

## 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả hiệu chuẩn vào biểu mẫu Giấy chứng nhận thử nghiệm.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả hiệu chuẩn chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả hiệu chuẩn.
- Trả kết quả thử nghiệm cho khách hàng.

### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Biểu mẫu Giấy chứng nhận thử nghiệm

### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Tất cả các thiết bị đo lường sử dụng trong quá trình thử nghiệm phải được hiệu chuẩn và thời gian hiệu chuẩn còn hiệu lực.
- Máy móc thiết bị phục vụ công tác thử nghiệm phải được vệ sinh sạch sẽ trước khi đưa vào thử nghiệm tránh tạo thêm bụi trong phòng gây ra sai số kết quả đo.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm

Không áp dụng.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cleanrooms and associated controlled environments (ISO 14644 – part 1:2015).
- Cleanrooms and associated controlled environments (ISO 14644 – part 3:2005).



- Procedural Standards for Certified Testing of Cleanroom: 2009 – Third edition, NEBB: National Environmental Balancing Bureau).
- WHO Expert committee on specification for pharmaceutical preparations – 2012.

*Handwritten signatures*

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 292:  
KIỂM ĐỊNH CÂN ĐIỆN TỬ**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này quy định phương pháp, phương tiện, điều kiện, trình tự, tính toán xử lý kết quả kiểm định cân điện tử nhằm đảm bảo việc kiểm định luôn được thực hiện theo một cách thống nhất.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

- **Cân phân tích:** là cân không tự động cấp chính xác đặc biệt (cấp chính xác I theo phân loại của OIML R76, còn gọi là cấp chính xác 1).

- **Cân kỹ thuật:** là cân không tự động cấp chính xác cao (cấp chính xác II theo phân loại của OIML R76, còn gọi là cấp chính xác 2).

- **Giá trị độ chia** (viết tắt là  $d$ ) là giá trị thể hiện bằng đơn vị đo khối lượng của:

+Hiệu số giữa 2 giá trị tương ứng 2 vạch chia liên tiếp ở cân cơ khí; hoặc

+Hiệu số giữa 2 giá trị chỉ thị liên tiếp ở cân điện tử.

- **Giá trị độ chia kiểm:** viết tắt là  $e$ , là giá trị thể hiện bằng đơn vị đo khối lượng dùng để phân loại và kiểm định cân.

- **Mức cân lớn nhất:** (viết tắt là Max) là khả năng cân lớn nhất không tính đến khả năng trừ bì của cân.

- **Mức cân nhỏ nhất:** (viết tắt là Min) là mức tải mà khi cân vật nhẹ hơn nó có thể bị sai số tương đối quá lớn.

- **Số lượng độ chia kiểm:** (viết tắt là  $n$ ) là tỷ số giữa mức cân lớn nhất và giá trị độ chia kiểm.

- **Độ động:** (tại một mức cân) của cân là khả năng phản ứng của cân đối với sự thay đổi nhỏ của tải trọng.

- **Độ lặp lại:** (tại một mức cân) là chênh lệch lớn nhất của nhiều lần cân cùng một tải trọng trong cùng điều kiện đo.

- **Sai số cho phép lớn nhất:** (tại một mức cân, viết tắt là  $mpe$ ) là chênh lệch lớn nhất theo quy định giữa giá trị chỉ thị của cân và giá trị tương ứng xác định bằng quả cân chuẩn tại mức cân đó.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- Cân: Cân phân tích và cân kỹ thuật

### **1.3. Nguyên lý**

Sử dụng các bộ quả cân chuẩn theo quy định để đánh giá sai số của cân phân tích, cân kỹ thuật theo quy trình kiểm định. Từ đó đánh giá các chỉ tiêu kỹ thuật của cân có đạt các yêu cầu kỹ thuật theo quy định của nhà nước hay không.

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

### 2.2. Vật tư

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

Không áp dụng

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Khẩu trang
- Dung dịch khử trùng
- Găng tay không bột các kích cỡ
- Văn phòng phẩm: bút, giấy A4, tem kiểm định, mực in

Bảo quản vật tư theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất

### 2.3. Thiết bị

- Bộ quả cân chuẩn
- Nhiệt kế môi trường

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Loại mẫu: các loại cân phân tích và kỹ thuật.
- Làm sạch vị trí đặt cân, bên trong và bên ngoài buồng cân.
- Kiểm tra độ thẳng bằng, nếu thấy cần thiết điều chỉnh lại cho cân ngay ngắn, cân bằng.
- Bật nguồn để sấy máy đối với cân điện tử tối thiểu 30 phút hoặc theo yêu cầu của nhà sản xuất.
- Mở cửa buồng cân để cân bằng nhiệt độ giữa không gian bên trong và bên ngoài;
- Đặt các quả cân chuẩn cạnh cân cần kiểm định, ổn định nhiệt độ đối với các quả cân chuẩn trong thời gian không nhỏ hơn giá trị quy định trong bảng dưới:

#### *Thời gian ổn định nhiệt độ*

Cấp chính xác của quả cân	E2				F1				F2			
AT * (°C)	20	5	2	0,5	20	5	2	0,5	20	5	2	0,5



Khối lượng danh nghĩa của quả cân	Thời gian ổn định nhiệt độ (giờ)											
	-	40	16	1	79	1	1	-	5	1	0,5	-
1 000 kg	-	40	16	1	79	1	1	-	5	1	0,5	-
100, 200, 500 kg	70	40	16	1	33	2	1	0,5	4	1	0,5	0,5
10, 20, 50 kg	27	18	10	1	12	4	1	0,5	3	1	0,5	0,5
1, 2, 5 kg	12	8	5	1	6	3	1	0,5	2	1	0,5	0,5
100, 200, 500 g	5	4	3	1	3	2	1	0,5	1	0,5	0,5	0,5
10, 20, 50 g	2	1	1	0,5	1	1	1	0,5	1	0,5	0,5	0,5
< 10 g	1	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

|AT|\* - *Chênh lệch ban đầu giữa nhiệt độ của quả cân và nhiệt độ tại nơi kiểm định*

- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu khí khách bàn giao

#### 2.4.2. Xác định mức kiểm định

Việc kiểm định phải được thực hiện theo quy định ở bảng dưới đây:

TT	Tên phép kiểm định	Chế độ kiểm định		
		Ban đầu	Định kỳ	Sau sửa chữa
1	Kiểm tra bên ngoài	+	+	+
2	Kiểm tra kỹ thuật	+	+	+
3	Kiểm tra đo lường	+	+	+
3.1	Kiểm tra độ động	+	+	+
3.2	Kiểm tra sai số điểm "0"	+	+	+
3.3	Kiểm tra độ lệch tâm	+	+	+
3.4	Kiểm tra độ lặp lại	+	+	+
3.5	Kiểm tra độ đúng	+	+	+

#### 2.4.3. Xác định chuẩn sử dụng

- Khi kiểm định cân phân tích phải sử dụng bộ quả cân chuẩn E2, F1 hoặc cao hơn

- Khi kiểm định cân kỹ thuật phải sử dụng bộ quả cân chuẩn F1, F2 hoặc cao hơn

#### 2.5. Phiếu chỉ định kiểm định

Không áp dụng.

#### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 6 giờ

#### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại cơ sở của khách hàng

### 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành

### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 4.1. Các bước thực hiện

##### 4.1.1. Kiểm tra bên ngoài

Phải kiểm tra bên ngoài theo các yêu cầu sau đây:

- Cân phải có đầy đủ các bộ phận và phụ kiện cần thiết.
- Bộ phận chỉ thị của cân phải đảm bảo rõ ràng và đọc được chính xác.
- Cân phải có nhãn hiệu ghi tối thiểu các thông tin sau:

+Ký hiệu cân hoặc cơ sở sản xuất;

+Số cân;

+Mức cân lớn nhất (Max);

+Giá trị độ chia kiểm;

+Cấp chính xác;

+Giá trị độ chia.

Giá trị độ chia (d) phải bằng  $1 \times 10^k$  kg hoặc  $2 \times 10^k$  kg hoặc  $5 \times 10^k$  kg với k là số nguyên dương hoặc số nguyên âm hoặc bằng không.

##### 4.1.2. Kiểm tra kỹ thuật

Phải kiểm tra kỹ thuật theo các yêu cầu sau đây:

- Bộ phận tiếp nhận tải của cân phải cứng vững và không bị vướng bởi các bộ phận khác của cân.
- Cân phải có vị trí niêm phong đảm bảo ngăn cản được việc điều chỉnh độ đúng của cân.
- Đối với cân phải sử dụng bộ quả cân đi kèm, bộ quả cân này phải có cấp chính xác phù hợp với cân và có giấy chứng nhận kiểm định còn hiệu lực.
- Gia tải khởi động 3 lần, mức tải khởi động tương đương  $(80 \sim 100)\%$  Max. Trong quá trình tải khởi động, cân phải hoạt động bình thường.

##### 4.1.3. Kiểm tra đo lường

Cân cần kiểm định được kiểm tra đo lường theo trình tự nội dung, phương pháp và yêu cầu sau đây:

###### a) Quy định chung

- Sai số cho phép lớn nhất (mpe) của cân được biểu thị theo giá trị độ chia kiểm (e) tùy thuộc vào mức cân (m) và cấp chính xác của cân được quy định trong bảng Sai số lớn nhất cho phép.

- Đối với cân có nhiều phạm vi đo thì phải tiến hành kiểm tra tất cả các phạm vi

đo, mỗi phạm vi đo được kiểm tra như một cân riêng biệt.

- Các mức cân Max, 1/2Max trong mục kiểm tra đo lường này được hiểu là giá trị lân cận

### *Sai số lớn nhất cho phép*

Mức cân m (thể hiện theo giá trị độ chia kiểm e)		Sai số cho phép lớn nhất (mpe)
Cân phân tích	Cân kỹ thuật	
$0 < m \leq 50\ 000$	$0 < m \leq 5\ 000$	$\pm 0,5 e$
$50\ 000 < m \leq 200\ 000$	$5\ 000 < m \leq 20\ 000$	$\pm 1,0 e$
$200\ 000 < m$	$20\ 000 < m \leq 100\ 000$	$\pm 1,5 e$

b) *Phương pháp xác định sai số tại một mức cân*

Đặt tải trọng L lên cân, chỉ thị trên cân là I. Sai số tại mức cân L được xác định như sau:

*Đối với cân cơ khí*

- Nếu  $I = L$  thì cân có sai số bằng "0" tại mức cân đó ( $E = 0$ ).

- Nếu  $I \neq L$ , lần lượt cho thêm vào đĩa cân các gia trọng theo bước bằng  $0,1e$  cho đến khi kim trùng với vạch kế tiếp (II). Trong trường hợp này sai số được tính theo công thức:

$$E = II - \Delta L - L \quad (1)$$

với  $\Delta L$  là khối lượng các gia trọng được thêm lên đĩa cân để có chỉ thị II.

*Đối với cân điện tử có  $d < 1/5 e$*

Sai số được tính theo công thức:

$$E = I - L \quad (2)$$

*Đối với cân điện tử có  $d > 1/5 e$*

Lần lượt cho thêm vào cân các gia trọng theo bước bằng  $0,1e$  cho đến khi hiển thị chuyển sang mức mới ( $I + e$ ). Trong trường hợp này sai số được tính theo công thức:

$$E = I + 1/2 e - \Delta L - L \quad (3)$$

với  $\Delta L$  là khối lượng các gia trọng được thêm lên đĩa cân để có chỉ thị ( $I + e$ ).

c) *Kiểm tra độ động*

*Đối với cân không tự chỉ thị*

- Cân không tự chỉ thị được tiến hành kiểm tra độ động ở 2 mức cân là Min và Max theo trình tự sau:

+Bước 1: Đặt tải trọng tương đương mức cân cần kiểm lên cân.

+Bước 2: Thêm tải trọng nhỏ có khối lượng bằng  $0,4$  lần giá trị tuyệt đối của mpe tại mức cân cần kiểm nhưng không nhỏ hơn  $1$  mg lên cân.



- Cân được đánh giá là đạt nếu tải trọng nhỏ tạo ra sự dịch chuyển có thể nhìn thấy được bằng mắt thường.

*Đối với cân có chỉ thị tương tự*

- Cân có chỉ thị tương tự được kiểm tra độ động tại 2 mức cân là Min và Max theo trình tự sau:

+Bước 1: Đặt tải trọng tương đương mức cân cần kiểm lên cân. Cân chỉ thị giá trị I1.

+Bước 2: Thêm tải trọng nhỏ có khối lượng bằng giá trị tuyệt đối của mpe tại mức cân cần kiểm nhưng không nhỏ hơn 1 mg lên cân. Cân chỉ thị giá trị I2.

- Cân được đánh giá là đạt nếu hiệu (I2 - I1) không nhỏ hơn 0,7 lần giá trị tải trọng đã thêm.

*Đối với cân có chỉ thị hiện số với  $d \geq 10$  mg*

- Cân có chỉ thị hiện số với  $d \geq 10$  mg được kiểm tra độ động tại 2 mức cân là Min và Max theo trình tự sau:

+Bước 1: Đặt tải trọng tương đương mức cân cần kiểm lên cân. Cân chỉ thị giá trị I1.

+Bước 2: Khi cân ở trạng thái cân bằng ổn định, lần lượt cho thêm vào cân các gia trọng theo bước bằng 0,1 d cho đến khi hiển thị chuyển sang mức mới I1.

+Bước 3: Thêm vào đĩa cân một khối lượng bằng 1,4d. Cân chỉ thị giá trị I2.

- Cân được đánh giá là đạt nếu  $(I2 - I1) \geq d$ .

*Đối với cân có chỉ thị hiện số với  $d < 10$  mg*

- Cân có chỉ thị hiện số với  $d < 10$  mg được kiểm tra độ động tại 2 mức cân là Min và Max theo trình tự sau:

+Bước 1: Đặt tải trọng tương đương mức cân cần kiểm lên cân. Cân chỉ thị giá trị I1.

+Bước 2: Thêm vào đĩa cân một khối lượng bằng 1,4e (hoặc 3e). Cân chỉ thị giá trị I2.

- Cân được đánh giá là đạt nếu  $(I2 - I1) \geq e$  (hoặc 2e), giá trị 2e áp dụng khi khối lượng thêm vào là 3e ở bước 2.

d) *Kiểm tra sai số điểm "0"*

- Việc kiểm tra sai số điểm "0" chỉ áp dụng đối cân điện tử, đối với các loại cân khác sử dụng giá trị  $E0 = 0$ .

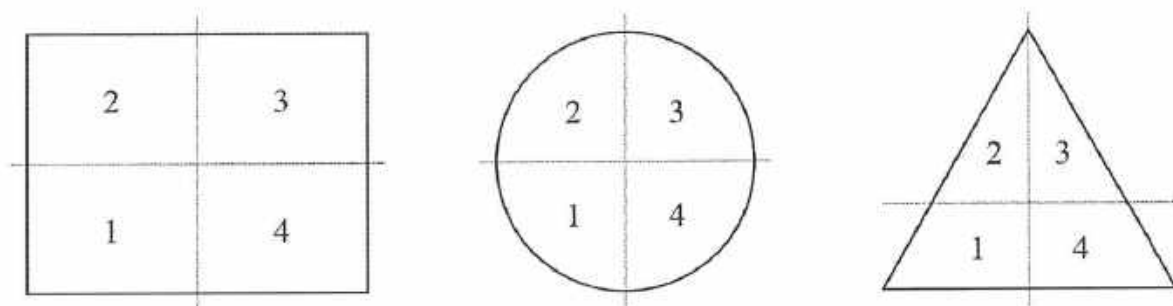
- Tại mức cân  $L = 0$  (hoặc  $L = \text{Min}$ ) xác định sai số theo mục 10.2.4.2. Sai số này được ký hiệu là  $E0$ .

- Cân được đánh giá là đạt nếu  $E0$  không vượt quá giá trị mpe tương ứng được quy định trong **Bảng 4**.

e) *Kiểm tra độ lệch tâm*

Việc kiểm tra độ lệch tâm không áp dụng đối với các cân có khả năng tự định tâm.

*Vị trí kiểm:* Bộ phận tiếp nhận tải được chia thành 4 phần có diện tích bằng nhau, 4 vị trí kiểm là vị trí phần tử chịu lực (nếu có) hoặc tâm của 4 phần đó. Ví dụ sơ đồ vị trí kiểm được mô tả trong **Hình 1**



**Hình 1. Ví dụ sơ đồ vị trí kiểm độ lệch tâm**

*Tài kiểm tra:* Tài kiểm tra xấp xỉ  $Max/3$ .

*Quy trình kiểm tra:*

Bước 1: Đưa số chỉ của cân về "0".

Bước 2: Lần lượt đặt tải kiểm tra vào các vị trí kiểm đã nêu tại mục trên, xác định sai số.

- Xác định sai số hiệu chính tại 4 điểm đã kiểm theo công thức:

$$E_c = E - E_0$$

- Cân được đánh giá là đạt nếu tất cả các giá trị sai số hiệu chính  $E_c$  được tính toán theo công thức (4) không vượt quá giá trị  $mpe$  tương ứng được quy định trong bảng.

f) *Kiểm tra độ lặp lại*

Việc kiểm tra độ lặp lại được thực hiện tại mức cân  $Max$  theo trình tự sau:

Bước 1: Đưa số chỉ của cân về "0".

Bước 2: Đặt tải trọng tương đương mức cân cần kiểm lên cân, xác định sai số

Bước 3: Lặp lại các bước 1 và bước 2 thêm 5 lần nữa cho đủ 6 lần.

Cân được đánh giá là đạt nếu hiệu giữa giá trị lớn nhất và giá trị nhỏ nhất của 6 giá trị sai số nhận được không vượt quá giá trị  $mpe$  tương ứng được quy định trong.

g) *Kiểm tra độ đúng*

Việc kiểm tra độ đúng được thực hiện tại ít nhất tại các mức cân sau:  $Min$ ,  $1/2Max$ ,  $Max$  và lân cận các điểm  $mpe$  thay đổi. Đối với cân có sử dụng quả mắc sẵn, các mức cân kiểm tra phải đảm bảo sử dụng được tất cả các quả mắc sẵn.

Cho phép sử dụng một trong hai phương pháp sau đây để kiểm tra độ đúng.

*Phương pháp kiểm đầy đủ*

Mỗi mức cân cần kiểm tra được tiến hành theo trình tự sau:

Bước 1: Đưa số chỉ của cân về "0".



Bước 2: Đặt tải trọng tương đương mức cân cần kiểm lên cân, xác định sai số

Bước 3: Xác định sai số hiệu chỉnh theo công thức trên

Cân được đánh giá là đạt nếu tất cả các giá trị sai số hiệu chỉnh không vượt quá giá trị mpe tương ứng được quy định trong bảng 4.

#### *Phương pháp kiểm nhanh*

Phương pháp kiểm nhanh chỉ áp dụng đối với cân điện tử có  $e \geq 10$  mg bằng cách lần lượt cho khối lượng chuẩn L tương ứng với các mức cân phải kiểm vào cân, tùy mpe của mức cân cần kiểm thêm một gia trọng vào cùng khối lượng chuẩn L. Mức cân được đánh giá là đạt khi giá trị chỉ thị trên cân tương ứng với dấu "+" trong bảng phương pháp kiểm nhanh.

#### *Phương pháp kiểm nhanh*

Sai số cho phép lớn nhất (mpe)	Khối lượng quả cân chuẩn	Giá trị chỉ thị trên cân				
		L - 1e	L	L + 1e	L + 2e	L + 3e
$\pm 0,5 e$	$L + (e - E_0)$	-	-	+	-	-
$\pm 1,0 e$	$L + (0,5e - E_0)$	-	+	+	-	-
$\pm 1,5 e$	$L + (e - E_0)$	-	+	+	+	-

Cân được đánh giá là đạt nếu tất cả các mức cân được đánh giá là đạt

#### 4.1.4. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau kiểm định.
- Thiết bị sau khi kiểm định được trả về chế độ cài đặt ban đầu và bàn giao lại thiết bị cho khách hàng.

#### 4.2. Nhận định kết quả

- Cân phân tích, cân kỹ thuật sau khi kiểm định nếu đạt các yêu cầu quy định của quy trình kiểm định này được cấp chứng chỉ kiểm định (giấy chứng nhận kiểm định và tem kiểm định và/hoặc dấu kiểm định, .v.v.) theo quy định. Dấu kiểm định phải được đóng (hoặc tem niêm phong phải được dán) tại các vị trí ngăn cản được việc điều chỉnh độ đúng của cân.
- Cân phân tích, cân kỹ thuật sau khi kiểm định nếu không đạt một trong các yêu cầu quy định của quy trình kiểm định này thì không cấp chứng chỉ kiểm định mới và xóa dấu kiểm định cũ (nếu có).
- Chu kỳ kiểm định của cân phân tích, cân kỹ thuật: 12 tháng theo ĐLVN16.

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả kiểm định vào biểu mẫu Giấy chứng nhận kiểm định.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả kiểm định chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về kết quả kiểm định.



- Trả kết quả hiệu chuẩn cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

- Biểu mẫu Quan trắc gốc

- Biểu mẫu Giấy chứng nhận kiểm định

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Nơi kiểm định phải khô ráo, sạch sẽ, đủ ánh sáng, nhiệt độ nằm trong khoảng nhiệt độ làm việc được nhà sản xuất cân quy định. Biến động nhiệt độ cần nằm trong giới hạn  $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  đối với cân phân tích và  $\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  đối với cân kỹ thuật.

- Bàn đặt cân phải vững chắc, đảm bảo cân không bị ảnh hưởng bởi các nguồn rung động

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Cán bộ kiểm định phải có chứng chỉ mới được thực hiện việc kiểm định.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tính toán sai kết quả kiểm định. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Áp dụng sai mức đánh giá. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả

- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm

Không áp dụng.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng

Tham gia chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng nếu có.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

ĐLVN 16:2021 Cân kỹ thuật, cân phân tích – Quy trình kiểm định.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 293:**  
**BẢO DƯỠNG NỘI HẤP TIỆT TRÙNG**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Hướng dẫn cách bảo dưỡng các loại nồi hấp tiệt trùng để đảm bảo các bước làm luôn được thực hiện theo một cách thống nhất, an toàn và phù hợp nhất đối với từng đối tượng.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

**Nồi hấp tiệt trùng:** là thiết bị dùng để tiệt trùng các vi sinh vật, bào tử hay vi khuẩn trong rác, dụng cụ... cần tiệt trùng bằng cách tạo ra hơi bão hòa ở áp suất và nhiệt độ đủ để diệt sạch các vi sinh vật, bào tử hay vi khuẩn đó. Theo nghiên cứu, tiệt trùng tại nhiệt độ khoảng 121°C, trong khoảng thời gian từ 15 - 20 phút, các vi khuẩn và vi sinh vật sẽ bị tiêu diệt hoàn toàn bởi những sự tác động từ hơi nước này.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

PTN: Phòng thí nghiệm

### **1.3. Nguyên lý**

- Bảo dưỡng là quá trình thực hiện một loạt các biện pháp kỹ thuật như kiểm tra, thay thế, bổ sung, vệ sinh nhằm kéo dài tuổi thọ của thiết bị đồng thời duy trì sự vận hành tin cậy.
- Bảo dưỡng chỉ áp dụng với các thiết bị đang hoạt động bình thường, không áp dụng với các thiết bị hỏng hóc, gặp sự cố, không sử dụng được
- Bảo dưỡng có thể tiến hành định kỳ hằng ngày, hằng tuần hoặc hằng năm tùy thuộc vào hạng mục bảo dưỡng cũng như tần suất sử dụng thiết bị.
- Luôn đối chiếu hướng dẫn sử dụng, bảo dưỡng của nhà sản xuất để có thêm các thông tin chi tiết trong quá trình thực hiện.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.
- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

**2.2. Vật tư****2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

Không áp dụng

**2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Găng tay không bột các cỡ
- Axit HCl 35%
- Chi thị hóa học
- Chi thị sinh học
- Bàn chải cọ rửa.
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, ghim kẹp
- Khay/chậu chứa nước
- Khăn lau
- Khâu trang

Bảo quản sinh phẩm, hoá chất theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

**2.3. Thiết bị**

- Đồng hồ đo điện đa năng
- Dụng cụ đo thể tích 1÷2 lít
- Bộ dụng cụ kỹ thuật/tháo lắp cầm tay

**2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu**

- Đọc nhật ký sửa chữa bảo dưỡng cũ của thiết bị
- Tìm đọc hướng dẫn sử dụng bảo dưỡng của thiết bị
- Ngắt kết nối nguồn điện tới thiết bị cũng như các kết nối khác
- Nếu được thì có thể di chuyển thiết bị ra khu vực thuận tiện cho việc bảo dưỡng

**2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

Không áp dụng.

**2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 8 giờ

**2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Tại cơ sở sử dụng thiết bị.

**3. AN TOÀN**

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.



## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Kiểm tra hình thức bên ngoài và tổng quan

- Kiểm tra tình trạng thiết bị, móp méo, va đập
- Đánh giá sơ bộ tình trạng thiết bị có được bảo quản cẩn thận, có được sử dụng bình thường

- Tháo vỏ của nồi hấp để kiểm tra tình trạng, đầu nối

#### 4.1.2. Kiểm tra gioăng nắp/cửa nồi hấp\

- Vệ sinh gioăng bằng dẻ lau mềm để tránh làm hỏng gioăng
- Kiểm tra gioăng (hình thức và khả năng đàn hồi, khả năng làm kín) và thay thế nếu cần. Quy trình thay gioăng được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất

#### 4.1.3. Kiểm tra các chức năng hoạt động

Cho vận hành thử thiết bị, kiểm tra các chức năng cài đặt, chức năng vận hành hoạt động có bình thường hay không.

#### 4.1.4. Kiểm tra các chức năng cảnh báo, an toàn của thiết bị

- Số lượng chức năng cảnh báo và an toàn của thiết bị không giống nhau ở các hãng, do đó cần lấy thêm thông tin trong hướng dẫn sử dụng, bảo dưỡng của hãng
- Nguyên lý chung là tạo ra các lỗi giả, hoặc cố tình vận hành sai (được cho phép theo quy định của nhà sản xuất) để kiểm tra sự hoạt động của những chức năng này.

- Lưu ý vấn đề an toàn trong quá trình tạo ra các lỗi giả cũng như cố tình vận hành sai.

- Các tính năng cảnh báo, an toàn thông dụng:

+ Chức năng cảnh báo thiếu nước trong khoang tiệt trùng

+ Cảnh báo lỗi đóng nắp nồi hấp chưa kín

+ Cảnh báo lỗi chưa đóng van xả nhanh

+ Tính năng an toàn không cho phép mở cửa nồi hấp khi đã chạy

+ Tính năng an toàn không cho phép mở cửa nồi hấp sau khi kết thúc nhưng nhiệt độ chưa thấp hơn giá trị cho phép.

#### 4.1.5. Kiểm tra các phím bấm, bảng điều khiển

- Kiểm tra tình trạng hoạt động của tất cả các phím bấm. Trong trường hợp các phím bấm phản ứng kém hoặc không có tác dụng: cần vệ sinh bảng mạch, công tắc của phim đó, hoặc thay thế nếu cần

- Kiểm tra phần hiển thị trên bảng điều khiển hoặc đèn tín hiệu, khi cần có thể sửa chữa hoặc thay thế.

#### 4.1.6. Kiểm tra đồng hồ áp suất

- Kiểm tra tình trạng bên ngoài của đồng hồ và đầu kết nối.

- Kiểm tra tình trạng hoạt động động bình thường của đồng hồ bằng cách quan sát trong quá trình chạy thử xem đồng hồ có thay đổi chỉ số khi nhiệt độ hơi nước trong nồi hấp tăng lên (gần nhiệt độ sôi) và quay trở về 0 sau khi kết thúc quá trình và nhiệt độ giảm xuống (nhiệt độ có thể mở nắp).

#### 4.1.7. Kiểm tra bộ cảm biến, hiển thị nhiệt độ

- Kiểm tra giấy chứng nhận thử nghiệm nồi hấp gần nhất để xem sai số của của bộ phận hiển thị nhiệt độ so với giá trị chuẩn. Ngoài ra có thể đánh giá song song với quá trình kiểm tra đồng hồ áp suất.

- Kiểm tra/vệ sinh cảm biến nhiệt độ trong khoang tiệt trùng.

#### 4.1.8. Tẩy cáu cặn, kiểm tra tra thanh đốt

- Nhấc tấm chắn khu vực thanh đốt ra để kiểm tra tình trạng cáu cặn bám.
- Nếu tình trạng bám cáu cặn chấp nhận được thì chỉ cần xả đáy, xúc rửa và thay nước tiệt trùng cho nồi hấp

- Trong tình trạng thanh đốt bị bám cáu cặn quá nhiều, sử dụng axit loãng 5% đổ ngập thanh đốt. Thỉnh thoảng dùng que nhựa để đảo axit, giúp việc tẩy cáu cặn được triệt để. (Nếu không có axit loãng thì có thể pha loãng axit đặc bằng cách đổ axit vào nước, tuyệt đối không đổ nước vào axit. Sử dụng bảo hộ cá nhân đầy đủ khi pha chế axit)

#### 4.1.9. Kiểm tra bình xả hơi

- Bình xả hơi là nơi thu gom hơi thoát ra trong quá trình tiệt trùng.
- Kiểm tra mực nước trong bình, kiểm tra tình trạng bình và sự đấu nối của đường ống dẫn hơi nước.
- Đảm bảo bình xả hơi luôn có nước nằm ở mức nước hợp lý theo hướng dẫn của nhà sản xuất

#### 4.1.10. Kiểm tra bơm hút chân không

- Đối với những nồi hấp có bơm hút chân không thì việc bảo dưỡng, thay thế phải tuân thủ theo quy trình của hãng hướng dẫn.
- Kiểm tra, vệ sinh các bộ lọc
- Tháo các bộ lọc cấp, bộ lọc thải đường hơi, đường nước, đường khí ra để vệ sinh, kiểm tra và thay thế nếu cần

### 4.2. Nhận định kết quả

Vận hành thiết bị sau khi bảo dưỡng xong, đánh giá các chức năng của thiết bị và bàn giao lại cho khách hàng.

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Toàn bộ nội dung bảo dưỡng, tình trạng thiết bị trước và sau bảo dưỡng được thể hiện trong “Biên bản báo cáo bảo dưỡng”



- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo các thông tin trong “Biên bản báo cáo bảo dưỡng” đúng và đầy đủ theo quy trình trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về “Biên bản báo cáo bảo dưỡng”.
- Trả “Biên bản báo cáo bảo dưỡng” cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Biên bản báo cáo bảo dưỡng

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Không kiểm tra đầy đủ tình trạng thiết bị: Tiến hành rà soát toàn diện, ghi chép chi tiết các hư hỏng, lỗi kỹ thuật hiện có.
- Thiếu dụng cụ, vật tư thay thế: Chuẩn bị đầy đủ các linh kiện, dụng cụ cần thiết trước khi bắt đầu bảo dưỡng.
- Không có bản hướng dẫn sử dụng, bảo dưỡng: In hoặc tra cứu hướng dẫn kỹ thuật của nhà sản xuất.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tháo lắp không đúng kỹ thuật: Thực hiện từng bước theo đúng hướng dẫn, chú ý đánh dấu vị trí các chi tiết trước khi tháo.
- Sử dụng sai hóa chất làm vệ sinh: Kiểm tra kỹ thành phần hóa chất, sử dụng đúng loại được khuyến cáo cho từng thiết bị.
- Không sử dụng bảo hộ cá nhân: Luôn sử dụng đầy đủ trang bị bảo hộ cá nhân theo quy định của PTN
- Để dụng cụ, linh kiện bừa bãi: Sắp xếp ngăn nắp, đúng vị trí để tránh thất lạc và nhầm lẫn.
- Thiếu tập trung, mất an toàn: Dừng ngay thao tác nếu cảm thấy mệt mỏi hoặc bị phân tâm.

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không kiểm tra hoàn chỉnh thiết bị: Tiến hành kiểm tra chức năng, độ chính xác của từng bộ phận. Vận hành thử và xác nhận tình trạng hoạt động tốt trước khi bàn giao.
- Thiếu ghi chép nhật ký bảo dưỡng: Bổ sung đầy đủ thông tin về các thao tác đã thực hiện.



- Đề sát dụng cụ bên trong thiết bị: Kiểm tra kỹ, lấy ra toàn bộ dụng cụ, vật tư.
- Không làm sạch hoàn toàn: Tiến hành làm sạch kỹ lưỡng, loại bỏ hoàn toàn vết bẩn.

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

### **6.1. Nội kiểm**

Không áp dụng.

### **6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng**

Không áp dụng

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- WHO's Maintenance manual for laboratory equipment – 2nd edition 2008  
WHO
- CDC's Cleaning and Disinfecting Guidance – 2021
- TOMY Operator's Manual (SX-300, SX-500, SX-700)
- HIRAYAMA Autoclave Operation manual (HVA-85, HVA-110)

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 294:  
BẢO DƯỠNG TỦ AN TOÀN SINH HỌC**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Hướng dẫn cách bảo dưỡng tủ An toàn sinh học để đảm bảo các bước làm luôn được thực hiện theo một cách thống nhất, và thiết bị luôn hoạt động đảm bảo chức năng bảo vệ.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Tủ an toàn sinh học (Biosafety Cabinet - BSC) là thiết bị được sử dụng trong các phòng thí nghiệm để bảo vệ người sử dụng, mẫu vật và môi trường khỏi các tác nhân sinh học gây hại (như vi rút, vi khuẩn, nấm, v.v.). Tủ an toàn sinh học hoạt động bằng cách tạo ra một không gian kín, thông qua hệ thống luồng không khí và bộ lọc, nhằm ngăn chặn sự phát tán của các mầm bệnh, đồng thời bảo vệ mẫu vật khỏi các tác động từ môi trường bên ngoài.

Tủ an toàn sinh học được phân thành 3 loại chính, dựa trên mức độ bảo vệ:

- Loại I: Chỉ bảo vệ người sử dụng và môi trường, nhưng không bảo vệ mẫu vật. Không khí được hút vào tủ qua các bộ lọc HEPA và xả ra ngoài qua lưới thải khí.
- Loại II: Bảo vệ cả người sử dụng, mẫu vật và môi trường. Luồng không khí được kiểm soát để giữ mẫu vật an toàn trong khi cũng bảo vệ người sử dụng.
- Loại III: Cung cấp mức độ bảo vệ cao nhất, bảo vệ cả người sử dụng, môi trường và mẫu vật. Tủ này sử dụng hệ thống khí nén và khí sạch với bộ lọc HEPA hoặc ULPA, và yêu cầu thao tác bằng các găng tay bảo vệ trong ngăn tủ kín.

Các tủ an toàn sinh học có vai trò quan trọng trong nghiên cứu, chẩn đoán y tế, và ứng dụng trong ngành dược phẩm, thực phẩm để đảm bảo an toàn sinh học trong quá trình làm việc với các mầm bệnh và chất liệu nguy hiểm.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- ATSH: An toàn sinh học
- PTN: Phòng thí nghiệm
- UV: Tia cực tím
- HEPA: Bộ lọc không khí hiệu suất cao

### **1.3. Nguyên lý**

- Bảo dưỡng là quá trình thực hiện một loạt các biện pháp kỹ thuật như kiểm tra, thay thế, bổ sung, vệ sinh nhằm kéo dài tuổi thọ của thiết bị đồng thời duy trì sự vận hành tin cậy.

- Bảo dưỡng chỉ áp dụng với các thiết bị đang hoạt động bình thường, không áp dụng với các thiết bị hỏng hóc, gặp sự cố, không sử dụng được

- Bảo dưỡng có thể tiến hành định kỳ hằng ngày, hằng tuần hoặc hằng năm tùy thuộc vào hạng mục bảo dưỡng cũng như tần suất sử dụng thiết bị.

- Luôn đổi chiều hướng dẫn sử dụng, bảo dưỡng của nhà sản xuất để có thêm các thông tin chi tiết trong quá trình thực hiện.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư**

#### **2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

Không áp dụng

#### **2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Khẩu trang
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...
- Dung dịch khử trùng

### **2.3. Thiết bị**

- Đồng hồ đo điện đa năng
- Bộ dụng cụ kỹ thuật/tháo lắp cầm tay, dụng cụ tạo khói (máy tạo khói, bát đá khô, hương đốt...)

### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu**

- Đọc nhật ký sửa chữa bảo dưỡng cũ của thiết bị
- Tìm đọc hướng dẫn sử dụng bảo dưỡng của thiết bị
- Bật tủ hoạt động liên tục 5 phút trước khi thực hiện
- Làm sạch bên trong tủ, di chuyển dụng cụ bên trong (nếu có) ra ngoài
- Khử nhiễm bề mặt khu vực làm việc bằng hóa chất khử nhiễm theo quy định.

### **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

Không áp dụng.

### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 6 giờ



## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại cơ sở sử dụng thiết bị.

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Kiểm tra hình thức bên ngoài và tổng quan:

- Tủ an toàn sinh học (ATSH) là thiết bị làm việc với tác nhân gây bệnh, độ kín của tủ là một chỉ tiêu quan trọng trong việc đảm bảo chức năng hoạt động tốt của tủ. Tủ ATSH móp méo, có kẽ hở có khả năng làm rò rỉ không khí lây nhiễm ra phòng thí nghiệm.

- Một số vấn đề thường gặp là trên nóc tủ, nước từ điều hòa, chất thải của động vật (thạch sùng, chuột) làm hư hại HEPA thải.

- Đánh giá vị trí đặt của tủ, có bị ảnh hưởng bởi các luồng gió bên ngoài không. (gần cửa ra vào, cửa sổ, lối đi lại)

#### 4.1.2. Kiểm tra các chức năng hoạt động

Bật tủ cho hoạt động bình thường và kiểm tra các chức năng hoạt động thông thường như:

- Bật tắt quạt
- Bật tắt đèn
- Bật tắt đèn UV

#### 4.1.3. Kiểm tra các chức năng cảnh báo

Tủ an toàn sinh học là thiết bị đảm bảo an toàn cho người nghiên cứu, mẫu xét nghiệm và môi trường xung quanh. Bất kỳ yếu tố bất thường nào cũng có nguy cơ lây nhiễm. Do đó chức năng cảnh báo của tủ cần hoạt động tốt. Tùy từng hãng sản xuất sẽ có các chức năng cảnh báo khác nhau, nhưng bất kỳ tủ nào cũng sẽ có những chức năng cảnh báo chính như sau:

- Cảnh báo tốc độ gió không đạt
- Cảnh báo cửa kính làm việc không đúng vị trí
- Tùy từng hãng sản xuất sẽ có những cảnh báo thêm như sau:
  - Cảnh báo áp suất HEPA cấp/thải quá cao (thường cảnh báo này sẽ liên động với cảnh báo tốc độ gió)
  - Cảnh báo số giờ làm việc của UV (tùy từng hãng sản xuất mà đèn UV có tuổi thọ từ 2000-10.000 giờ làm việc)
  - Cảnh báo số giờ làm việc của HEPA

#### 4.1.4. Kiểm tra các phím bấm bảng điều khiển

Sử dụng các phím bấm trên bảng điều khiển xem có hoạt động đúng chức năng hay không. Nếu không thì cần tiến hành vệ sinh bảng mạch (thường thì hiệu quả không cao) hoặc liên lạc với hãng sản xuất để có phương án khắc phục.

#### 4.1.5. Tốc độ gió hiển thị trên tủ

Trên các tủ ATSH thường có đồng hồ cơ hoặc điện tử hiển thị tốc độ gió của tủ: gió vào (inflow) và gió xuống bề mặt làm việc (downflow). Đọc các thông số tốc độ gió này và đánh giá với thông số tủ của nhà sản xuất để biết tình trạng của tủ. Tốc độ gió thấp hơn tiêu chuẩn có thể do tắc HEPA hoặc điện yếu.

#### 4.1.6. Chênh áp HEPA cấp/thải

- Thông số này giúp chúng ta biết tình trạng HEPA đã cần thay hay chưa. Các cảnh báo tuổi thọ HEPA kèm trong tủ (nếu có) chỉ có tính tham khảo. Điều kiện môi trường về nồng độ bụi của từng PXN ảnh hưởng rất lớn đến vòng đời của tuổi thọ HEPA.

- Xem thông tin kỹ thuật của tủ để biết chênh áp ban đầu P0 của HEPA là bao nhiêu. Một HEPA cần được chuẩn bị được thay nếu chênh áp  $\sim 1,5P0$ , cho dù lúc đó tốc độ gió của tủ vẫn đạt yêu cầu.

#### 4.1.7. Điện áp làm việc của quạt

- Tủ ATSH thường có cảm biến tốc độ gió và tự động điều chỉnh công suất quạt để tốc độ gió của tủ đạt tốc độ tiêu chuẩn của nhà sản xuất.

- Sau một thời gian hoạt động, do chênh áp của HEPA tăng (HEPA tắc) dẫn đến tốc độ gió thấp xuống. Lúc đó bộ điều khiển tự động sẽ tự động nâng cao công suất quạt. Một số tủ khác thì việc tăng công suất quạt bắt buộc phải được thực hiện bởi kỹ sư đến thử nghiệm tủ hàng năm.

- Việc đo điện áp làm việc của quạt để biết khoảng dự trữ công suất còn bao nhiêu và có thể kết luận sắp phải thay HEPA hay chưa

#### 4.1.8. Vệ sinh khoang dưới bề mặt làm việc:

- Vị trí này thường tích trữ các vật liệu phát sinh trong quá trình xét nghiệm như: đầu côn, kim xi lanh, giấy khô, bông... đặc biệt có những tủ còn chứa những dung dịch ko rõ nguồn gốc ở đây.

- Khoang này chỉ có tác dụng làm dòng khí lưu thông tốt để tủ hoạt động đúng chức năng. Nên mọi vật thể "lạ" ở đây đều cần được làm sạch bằng cồn 70%.

#### 4.1.9. Vệ sinh đèn tím (UV)

- Đèn UV có tác dụng diệt khuẩn, giúp làm sạch bề mặt trong khoang làm việc của tủ ATSH.

- Bụi bám vào đèn UV làm hiệu quả diệt khuẩn của đèn giảm đi rất nhiều. Do đó đèn UV cần được vệ sinh định kỳ.

- Sử dụng khăn không bụi và cồn (90% hoặc hơn) để lau bụi bám trên bóng đèn.

#### 4.1.10. Vệ sinh đèn chiếu sáng

Sử dụng khăn không bụi và cồn (90% hoặc hơn) để lau bụi bám trên bóng đèn.



#### 4.1.11. Thử nghiệm hướng dòng khí

Sử dụng các dụng cụ tạo khói để đánh giá hình thái dòng khí tại 4 vị trí:

- Tại cửa hút gió
- Gió thổi xuống bề mặt làm việc
- Các khe tấm kính chặn
- Sau tấm kính chặn phía trong buồng làm việc

#### 4.1.12. Kết thúc bảo dưỡng

- Thu dọn đồ đạc, dụng cụ, phân loại chất thải, đồ bảo hộ theo quy định của PTN.
- Ghi chép hồ sơ theo quy định: biên bản báo cáo bảo dưỡng.

### 4.2. Nhận định kết quả

Vận hành thiết bị sau khi bảo dưỡng xong, đánh giá các chức năng của thiết bị và bàn giao lại cho khách hàng.

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Toàn bộ nội dung bảo dưỡng, tình trạng thiết bị trước và sau bảo dưỡng được thể hiện trong “Biên bản báo cáo bảo dưỡng”
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo các thông tin trong “Biên bản báo cáo bảo dưỡng” đúng và đầy đủ theo quy trình trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về “Biên bản báo cáo bảo dưỡng”.
- Trả “Biên bản báo cáo bảo dưỡng” cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Biên bản báo cáo bảo dưỡng

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Không kiểm tra đầy đủ tình trạng thiết bị: Tiến hành rà soát toàn diện, ghi chép chi tiết các hư hỏng, lỗi kỹ thuật hiện có.
- Thiếu dụng cụ, vật tư thay thế: Chuẩn bị đầy đủ các linh kiện, dụng cụ cần thiết trước khi bắt đầu bảo dưỡng.
- Không có bản hướng dẫn sử dụng, bảo dưỡng: In hoặc tra cứu hướng dẫn kỹ thuật của nhà sản xuất.



### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tháo lắp không đúng kỹ thuật: Thực hiện từng bước theo đúng hướng dẫn, chú ý đánh dấu vị trí các chi tiết trước khi tháo.
- Sử dụng sai hóa chất làm vệ sinh: Kiểm tra kỹ thành phần hóa chất, sử dụng đúng loại được khuyến cáo cho từng thiết bị.
- Không sử dụng bảo hộ cá nhân: Luôn sử dụng đầy đủ trang bị bảo hộ cá nhân theo quy định của PTN
- Để dụng cụ, linh kiện bừa bãi: Sắp xếp ngăn nắp, đúng vị trí để tránh thất lạc và nhầm lẫn.
- Thiếu tập trung, mất an toàn: Dừng ngay thao tác nếu cảm thấy mệt mỏi hoặc bị phân tâm.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không kiểm tra hoàn chỉnh thiết bị: Tiến hành kiểm tra chức năng, độ chính xác của từng bộ phận. Vận hành thử và xác nhận tình trạng hoạt động tốt trước khi bàn giao.
- Thiếu ghi chép nhật ký bảo dưỡng: Bổ sung đầy đủ thông tin về các thao tác đã thực hiện.
- Để sót dụng cụ bên trong thiết bị: Kiểm tra kỹ, lấy ra toàn bộ dụng cụ, vật tư.
- Không làm sạch hoàn toàn: Tiến hành làm sạch kỹ lưỡng, loại bỏ hoàn toàn vết bẩn.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Không áp dụng

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- WHO's Maintenance manual for laboratory equipment – 2nd edition 2008 WHO
- CDC's Cleaning and Disinfecting Guidance – 2021
- ESCO Operator's Manual (AC2-4E1, AC2-4E8)
- THERMO SCIENTIFIC 1386 Manuals

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 295:  
BẢO DƯỠNG TỦ NHIỆT**

**1. ĐẠI CƯƠNG**

**1.1. Mục đích**

Hướng dẫn cách bảo dưỡng các loại tủ âm, tủ sấy, lò nung, tủ lạnh, tủ lạnh âm, tủ lạnh âm sâu để đảm bảo việc bảo dưỡng thiết bị luôn được thực hiện theo một cách thống nhất và thiết bị luôn hoạt động tối ưu.

**1.2. Định nghĩa**

**1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Tủ nhiệt là thiết bị sử dụng điện để gia nhiệt hoặc làm lạnh không khí khoang làm việc có hệ thống đo và điều khiển nhiệt độ theo giá trị đặt

**1.2.2. Từ viết tắt**

PTN: Phòng thí nghiệm

**1.3. Nguyên lý**

- Bảo dưỡng là quá trình thực hiện một loạt các biện pháp kỹ thuật như kiểm tra, thay thế, bổ sung, vệ sinh nhằm kéo dài tuổi thọ của thiết bị đồng thời duy trì sự vận hành tin cậy.

- Bảo dưỡng chỉ áp dụng với các thiết bị đang hoạt động bình thường, không áp dụng với các thiết bị hỏng hóc, gặp sự cố, không sử dụng được

- Bảo dưỡng có thể tiến hành định kỳ hằng ngày, hằng tuần hoặc hằng năm tùy thuộc vào hạng mục bảo dưỡng cũng như tần suất sử dụng thiết bị.

- Luôn đối chiếu hướng dẫn sử dụng, bảo dưỡng của nhà sản xuất để có thêm các thông tin chi tiết trong quá trình thực hiện.

**2. CHUẨN BỊ**

**2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn

**2.2. Vật tư**

**2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

Không áp dụng

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Khẩu trang.
- Khăn lau không bụi.
- Dung dịch khử trùng
- Dung dịch vệ sinh, làm sạch (chất tẩy rửa)
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

Bảo quản sinh phẩm, hoá chất theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Đồng hồ đo điện đa năng
- Bộ dụng cụ kỹ thuật/tháo lắp cầm tay

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

- Đọc hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất
- Đọc lý lịch thiết bị/nhật ký sử dụng thiết bị, chú ý các thông tin về hiệu chuẩn, sửa chữa, bảo dưỡng.
- Ngắt các kết nối của thiết bị với nguồn điện và các hệ thống phụ trợ (hệ thống báo động, hệ thống khí ...)
- Di chuyển toàn bộ các vật tư, sinh phẩm, hóa chất....bên trong tủ, bảo quản tạm thời tại thiết bị khác.
- Tùy vào tình hình thực tế tại PTN, bố trí khu vực tách biệt để bảo dưỡng tránh va chạm, bụi bắn bám vào các thiết bị khác.

### 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Không áp dụng.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 4 giờ

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại cơ sở sử dụng thiết bị.

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.



## 4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Kiểm tra hình thức bên ngoài và tổng quan

- Kiểm tra tình trạng thiết bị, móp méo, va đập
- Đánh giá sơ bộ tình trạng thiết bị có được bảo quản cẩn thận, có được sử dụng bình thường

#### 4.1.2. Bảo dưỡng giàn lạnh

- Xả đá: tùy vào tình trạng đóng băng bên trong tủ có thể chọn một trong các cách xả đá sau:

+Xả đá tự nhiên: mở cửa tủ để đá bám bên trong tự tan theo thời gian

+Xả đá cưỡng bức: vận hành chương trình phá băng của tủ (Defrost) nếu có, sử dụng nước ấm làm tan đá, dùng dụng cụ phá băng bằng nhựa loại bỏ đá bám trên các bề mặt. Có thể kết hợp cùng quạt gió, máy sấy để tăng hiệu suất xả đá

- Vệ sinh, bôi trơn quạt tản nhiệt
- Kiểm tra hoạt động của bộ phá băng tự động

#### 4.1.3. Bảo dưỡng giàn nóng

- Vệ sinh lưới lọc bụi
- Vệ sinh bụi bám trên giàn ngưng tụ, máy nén
- Kiểm tra cường độ dòng điện hoạt động, khả năng cách điện của máy nén, kiểm tra các loại rơ le khởi động, rơ le bảo vệ của máy nén

- Kiểm tra, vệ sinh bộ phận gia nhiệt

- Kiểm tra, vệ sinh, bôi trơn quạt tản nhiệt

#### 4.1.4. Bảo dưỡng bảng điều khiển và các bộ phận khác

- Kiểm tra các chức năng: hiển thị, cài đặt, cảnh báo của tủ
- Kiểm tra, thay thế pin của bộ điều khiển
- Vệ sinh cánh tủ, gioăng tủ, các giá đỡ, bề mặt khoang bảo quản bằng dung dịch tẩy rửa và vải mềm.

- Vệ sinh các cảm biến nhiệt độ

- Kiểm tra bản lề cửa tủ, căn chỉnh, siết lại các ốc vít nếu có hiện tượng rơ, lỏng.

- Kiểm tra, thông tắc đường thoát nước ngưng

- Kiểm tra, thay thế màng lọc khí của tủ ẩm CO<sub>2</sub> nếu có.

#### 4.1.5. Kết thúc bảo dưỡng

- Kết nối lại nguồn điện và các hệ thống phụ trợ

- Khởi động lại tủ và chờ tủ hoạt động ổn định

- Thu dọn đồ đạc, dụng cụ, phân loại chất thải, đồ bảo hộ theo quy định của PTN.

- Ghi chép hồ sơ theo quy định: biên bản báo cáo bảo dưỡng

#### **4.2. Nhận định kết quả**

Vận hành thiết bị sau khi bảo dưỡng xong, đánh giá các chức năng của thiết bị và bàn giao lại cho khách hàng.

#### **4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ**

##### **4.3.1. Trả kết quả**

- Toàn bộ nội dung bảo dưỡng, tình trạng thiết bị trước và sau bảo dưỡng được thể hiện trong “Biên bản báo cáo bảo dưỡng”

- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo các thông tin trong “Biên bản báo cáo bảo dưỡng” đúng và đầy đủ theo quy trình trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.

- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về “Biên bản báo cáo bảo dưỡng”.

- Trả “Biên bản báo cáo bảo dưỡng” cho khách hàng.

##### **4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu**

Biên bản báo cáo bảo dưỡng

##### **4.3.3. Hồ sơ**

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

### **5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

#### **5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật**

- Không kiểm tra đầy đủ tình trạng thiết bị: Tiến hành rà soát toàn diện, ghi chép chi tiết các hư hỏng, lỗi kỹ thuật hiện có.

- Thiếu dụng cụ, vật tư thay thế: Chuẩn bị đầy đủ các linh kiện, dụng cụ cần thiết trước khi bắt đầu bảo dưỡng.

- Không có bản hướng dẫn sử dụng, bảo dưỡng: In hoặc tra cứu hướng dẫn kỹ thuật của nhà sản xuất.

#### **5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Tháo lắp không đúng kỹ thuật: Thực hiện từng bước theo đúng hướng dẫn, chú ý đánh dấu vị trí các chi tiết trước khi tháo.

- Sử dụng sai hóa chất làm vệ sinh: Kiểm tra kỹ thành phần hóa chất, sử dụng đúng loại được khuyến cáo cho từng thiết bị.

- Không sử dụng bảo hộ cá nhân: Luôn sử dụng đầy đủ trang bị bảo hộ cá nhân theo quy định của PTN

- Để dụng cụ, linh kiện bừa bãi: Sắp xếp ngăn nắp, đúng vị trí để tránh thất lạc và nhầm lẫn.

- Thiếu tập trung, mất an toàn: Dừng ngay thao tác nếu cảm thấy mệt mỏi hoặc bị phân tâm.

### **5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Không kiểm tra hoàn chỉnh thiết bị: Tiến hành kiểm tra chức năng, độ chính xác của từng bộ phận. Vận hành thử và xác nhận tình trạng hoạt động tốt trước khi bàn giao.

- Thiếu ghi chép nhật ký bảo dưỡng: Bổ sung đầy đủ thông tin về các thao tác đã thực hiện.

- Để sót dụng cụ bên trong thiết bị: Kiểm tra kỹ, lấy ra toàn bộ dụng cụ, vật tư.

- Không làm sạch hoàn toàn: Tiến hành làm sạch kỹ lưỡng, loại bỏ hoàn toàn vết bẩn.

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

Không áp dụng

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- WHO's Maintenance manual for laboratory equipment – 2nd edition 2008 WHO
- CDC's Cleaning and Disinfecting Guidance – 2021
- Sanyo user manuals
- Memmert incubator user manual
- Thermo scientific user manuals
- Nuair NU-4500 manual



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 296:  
BẢO DƯỠNG CÂN ĐIỆN TỬ**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Hướng dẫn cách bảo dưỡng cân điện tử để đảm bảo việc vận hành và bảo dưỡng thiết bị luôn được thực hiện theo một cách thống nhất và thiết bị luôn hoạt động chính xác.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Cân điện tử là một thiết bị dùng để đo trọng lượng của vật thể bằng cách sử dụng các cảm biến điện tử để chuyển đổi lực tác động (do trọng lượng của vật thể) thành tín hiệu điện. Cân điện tử thường có độ chính xác cao, dễ sử dụng và hiển thị kết quả trên màn hình điện tử.

Cấu tạo của cân điện tử gồm các bộ phận chính như:

- Cảm biến lực (Load Cell): Đây là bộ phận chính giúp chuyển đổi lực tác động thành tín hiệu điện. Các cảm biến này thường sử dụng công nghệ strain gauge (cảm biến độ biến dạng) để đo sự thay đổi của vật liệu khi có tải trọng tác động lên.

- Mạch điện tử: Mạch này xử lý tín hiệu điện từ cảm biến và chuyển đổi thành giá trị trọng lượng có thể đọc được.

- Màn hình hiển thị: Cân điện tử thường có màn hình LCD hoặc LED để hiển thị kết quả đo trọng lượng.

- Bàn cân: Là nơi đặt vật thể cần cân. Thông thường, bàn cân có kích thước và thiết kế phù hợp với các vật thể cần đo trọng lượng.

Cân điện tử được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như thương mại, phòng thí nghiệm, y tế, công nghiệp, và trong các nghiên cứu khoa học nhờ tính chính xác, dễ sử dụng và khả năng đo được với các đơn vị khác nhau (gam, kilogram, ounce, pound, v.v.).

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

PTN: Phòng thí nghiệm

### **1.3. Nguyên lý**

- Bảo dưỡng là quá trình thực hiện một loạt các biện pháp kỹ thuật như kiểm tra, thay thế, bổ sung, vệ sinh nhằm kéo dài tuổi thọ của thiết bị đồng thời duy trì sự vận hành tin cậy.

- Bảo dưỡng chỉ áp dụng với các thiết bị đang hoạt động bình thường, không áp dụng với các thiết bị hỏng hóc, gặp sự cố, không sử dụng được

- Bảo dưỡng có thể tiến hành định kỳ hằng ngày, hằng tuần hoặc hằng năm tùy thuộc vào hạng mục bảo dưỡng cũng như tần suất sử dụng thiết bị.

- Luôn đối chiếu hướng dẫn sử dụng, bảo dưỡng của nhà sản xuất để có thêm các thông tin chi tiết trong quá trình thực hiện.

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### 2.2. Vật tư

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

Không áp dụng

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...
- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Khăn/giẻ lau không bụi
- Dung dịch khử trùng

### 2.3. Thiết bị

Bộ dụng cụ kỹ thuật/tháo lắp cầm tay

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

- Đọc nhật ký sửa chữa bảo dưỡng cũ của thiết bị
- Tìm đọc hướng dẫn sử dụng bảo dưỡng của thiết bị
- Bật cân và điều hòa nhiệt độ trong phòng ít nhất 30 phút trước khi bảo dưỡng, đảm bảo nhiệt độ trong phòng và cân ổn định.
- Cân chỉnh lại độ nghiêng (giọt nước) sự cân bằng chân đế của cân và bàn cân.
- Tuân thủ hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Không áp dụng.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 4 giờ

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại cơ sở sử dụng thiết bị.

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.



## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Thực hiện bảo dưỡng thiết bị

- Kiểm tra tình trạng thiết bị, móp méo, va đập. Đánh giá sơ bộ tình trạng thiết bị có được bảo quản cẩn thận, có được sử dụng bình thường...

- Đọc lại kết quả hiệu chuẩn gần nhất của tủ, đọc lý lịch thiết bị của tủ để đánh giá sơ bộ tình trạng thiết bị hiện tại.

- Kiểm tra cơ cấu mở cửa, các phím chức năng, tính năng của cân.

- Sử dụng còn 70% vệ sinh buồng cân, đĩa cân.

- Sau các thao tác vệ sinh cần điều chỉnh cân về vị trí cân bằng.

- Hiệu chuẩn nhanh cân

+Nếu cân có chức năng nội hiệu chuẩn thì thực hiện hiệu chuẩn nhanh lại cân theo hướng dẫn của hãng

+Sử dụng quả cân chuẩn đi kèm theo cân để ngoại hiệu chuẩn cân theo hướng dẫn của hãng.

- Kiểm tra không tải cân: Đặt quả cân hoặc 1 tải trọng phù hợp khác 0 lên đĩa cân rồi nhấc ra ngay. Ghi nhận kết quả ~0 này và so sánh với giới hạn cho phép (theo tài liệu hãng)

- Kiểm tra độ lệch tâm, độ đúng của cân:

+Kiểm tra độ lệch tâm: đặt quả cân lên các góc và trung tâm của đĩa cân. Ghi chép các kết quả này vào biểu mẫu bảo dưỡng để tính toán ra độ lệch chuẩn và so sánh với giới hạn cho phép (theo tài liệu hãng)

+Kiểm tra độ chính xác: đo lặp quả cân chuẩn đi theo cân tối thiểu 5 lần. Tất cả kết quả phải nằm trong giới hạn cho phép (theo tài liệu hãng)

#### 4.1.2. Kết thúc bảo dưỡng:

- Thu dọn đồ đạc, dụng cụ, phân loại chất thải, đồ bảo hộ theo quy định của PTN.

- Ghi chép hồ sơ theo quy định: biên bản báo cáo bảo dưỡng

### 4.2. Nhận định kết quả

Vận hành thiết bị sau khi bảo dưỡng xong, đánh giá các chức năng của thiết bị và bàn giao lại cho khách hàng.

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Toàn bộ nội dung bảo dưỡng, tình trạng thiết bị trước và sau bảo dưỡng được thể hiện trong “Biên bản báo cáo bảo dưỡng”

- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo các thông tin trong “Biên bản báo cáo bảo dưỡng” đúng và đầy đủ theo quy trình trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.

- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về “Biên bản báo cáo bảo



dưỡng”.

- Trả “Biên bản báo cáo bảo dưỡng” cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Biên bản báo cáo bảo dưỡng

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Không kiểm tra đầy đủ tình trạng thiết bị: Tiến hành rà soát toàn diện, ghi chép chi tiết các hư hỏng, lỗi kỹ thuật hiện có.

- Thiếu dụng cụ, vật tư thay thế: Chuẩn bị đầy đủ các linh kiện, dụng cụ cần thiết trước khi bắt đầu bảo dưỡng.

- Không có bản hướng dẫn sử dụng, bảo dưỡng: In hoặc tra cứu hướng dẫn kỹ thuật của nhà sản xuất.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tháo lắp không đúng kỹ thuật: Thực hiện từng bước theo đúng hướng dẫn, chú ý đánh dấu vị trí các chi tiết trước khi tháo.

- Sử dụng sai hóa chất làm vệ sinh: Kiểm tra kỹ thành phần hóa chất, sử dụng đúng loại được khuyến cáo cho từng thiết bị.

- Không sử dụng bảo hộ cá nhân: Luôn sử dụng đầy đủ trang bị bảo hộ cá nhân theo quy định của PTN

- Để dụng cụ, linh kiện bừa bãi: Sắp xếp ngăn nắp, đúng vị trí để tránh thất lạc và nhầm lẫn.

- Thiếu tập trung, mất an toàn: Dừng ngay thao tác nếu cảm thấy mệt mỏi hoặc bị phân tâm.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không kiểm tra hoàn chỉnh thiết bị: Tiến hành kiểm tra chức năng, độ chính xác của từng bộ phận. Vận hành thử và xác nhận tình trạng hoạt động tốt trước khi bàn giao.

- Thiếu ghi chép nhật ký bảo dưỡng: Bổ sung đầy đủ thông tin về các thao tác đã thực hiện.

- Để sót dụng cụ bên trong thiết bị: Kiểm tra kỹ, lấy ra toàn bộ dụng cụ, vật tư.

- Không làm sạch hoàn toàn: Tiến hành làm sạch kỹ lưỡng, loại bỏ hoàn toàn vết bẩn.

**6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

Không áp dụng.

**7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- WHO's Maintenance manual for laboratory equipment – 2nd edition 2008 WHO
- CDC's Cleaning and Disinfecting Guidance – 2021
- OHAUS Explorer® Balances Instruction Manual
- Sartorius Balance Service Manual

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 297:  
**BẢO DƯỠNG MÁY LY TÂM**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Hướng dẫn cách bảo dưỡng các loại máy ly tâm, ly tâm lạnh để đảm bảo việc bảo dưỡng thiết bị luôn được thực hiện theo một cách thống nhất và thiết bị luôn hoạt động tối ưu.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Máy ly tâm là một thiết bị sử dụng lực ly tâm để phân tách các thành phần trong một dung dịch hoặc hỗn hợp dựa trên sự khác biệt về mật độ của chúng. Máy ly tâm hoạt động bằng cách quay một ống chứa mẫu với tốc độ cao, tạo ra lực ly tâm mạnh mẽ, khiến các thành phần nặng hơn di chuyển ra ngoài, còn các thành phần nhẹ hơn sẽ tập trung ở gần trung tâm.

Cấu tạo của máy ly tâm bao gồm:

- Động cơ quay: Cung cấp lực quay để tạo ra tốc độ quay cần thiết.
- Rotor: Là bộ phận giữ các ống ly tâm chứa mẫu, được gắn vào động cơ quay và chịu tác động của lực ly tâm.
- Ống ly tâm: Được chứa mẫu vật, thường là các ống nhỏ bằng nhựa hoặc thủy tinh, có nắp đậy để ngăn mẫu bị rơi ra ngoài.
- Hệ thống điều khiển: Cho phép người dùng điều chỉnh tốc độ quay (được tính bằng vòng/phút - RPM) và thời gian quay.

Máy ly tâm được sử dụng rộng rãi trong các phòng thí nghiệm hóa học, sinh học, y học và công nghiệp, đặc biệt trong các ứng dụng như phân tách tế bào, huyết thanh, DNA, protein, hoặc các thành phần khác trong các nghiên cứu và quy trình sản xuất

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

PTN: Phòng thí nghiệm

### **1.3. Nguyên lý**

- Bảo dưỡng là quá trình thực hiện một loạt các biện pháp kỹ thuật như kiểm tra, thay thế, bổ sung, vệ sinh nhằm kéo dài tuổi thọ của thiết bị đồng thời duy trì sự vận hành tin cậy.

- Bảo dưỡng chỉ áp dụng với các thiết bị đang hoạt động bình thường, không áp dụng với các thiết bị hỏng hóc, gặp sự cố, không sử dụng được

- Bảo dưỡng có thể tiến hành định kỳ hằng ngày, hằng tuần hoặc hằng năm tùy thuộc vào hạng mục bảo dưỡng cũng như tần suất sử dụng thiết bị.

- Luôn đối chiếu hướng dẫn sử dụng, bảo dưỡng của nhà sản xuất để có thêm các thông tin chi tiết trong quá trình thực hiện.



## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra, tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, thử nghiệm thiết bị: Trình độ cao đẳng trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán, phiên giải, xem xét và phê duyệt kết quả: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học tự nhiên, Kỹ thuật, Công nghệ kỹ thuật, Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư**

#### **2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

Không áp dụng

#### **2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Dung dịch khử trùng
- Găng tay không bột tan các kích cỡ
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...
- Dung dịch làm sạch, tẩy ri sét
- Khẩu trang.
- Khăn/giẻ lau không bụi.

### **2.3. Thiết bị**

- Đồng hồ đo điện đa năng
- Máy đo tốc độ vòng quay
- Bộ dụng cụ kỹ thuật, tháo lắp cầm tay

### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu**

- Đọc nhật ký sửa chữa bảo dưỡng cũ của thiết bị
- Tìm đọc hướng dẫn sử dụng bảo dưỡng của thiết bị
- Ngắt kết nối nguồn điện tới thiết bị cũng như các kết nối khác
- Thực hiện làm sạch và khử trùng bằng cồn 70%

### **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

Không áp dụng.

### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Số thời gian để thực hiện quy trình (đã bao gồm tất cả các vị trí công việc): 3 giờ

### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Tại cơ sở sử dụng thiết bị.

### 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 4.1. Các bước thực hiện

##### 4.1.1. Kiểm tra hình thức bên ngoài và tổng quan

- Thực hiện kiểm tra tính toàn vẹn của vỏ máy, chân máy hoặc đế cao su của máy ly tâm

- Kiểm tra hoạt động của nắp đậy: nắp phải được đóng và khóa một cách dễ dàng, nếu có sự cố phải được căn chỉnh lại

- Kiểm tra hoạt động của cơ cấu mở nắp khi gặp sự cố/mất điện

##### 4.1.2. Bảo dưỡng buồng ly tâm

- Kiểm tra, vệ sinh gioăng, thay thế nếu cần thiết

- Kiểm tra, vệ sinh các giỏ đựng mẫu, rô-to

- Kiểm tra độ chắc chắn của rô-to, các đai ốc trung tâm phải được siết chặt

- Kiểm tra, vệ sinh cảm biến nhiệt độ đối với máy ly tâm lạnh.

##### 4.1.3. Bảo dưỡng bộ điều khiển

- Kiểm tra màn hình hiển thị

- Kiểm tra hoạt động của các nút, phím, công tắc... trên bảng điều khiển

- Kiểm tra cài đặt, các chương trình có sẵn

- Tháo vỏ che của máy, kiểm tra sơ bộ bên trong, loại bỏ các điểm rỉ sét, bám bẩn bằng dung dịch RP7.

- Kiểm tra tính toàn vẹn của bảng mạch, các linh kiện điện tử.

##### 4.1.4. Bảo dưỡng động cơ, bộ phận làm mát

- Kiểm tra các phụ kiện động cơ: Tất cả các ốc vít phải được siết chặt, bộ đệm cao su của động cơ không bị vỡ.

- Bôi trơn các bộ phận nắp, bản lề, cơ cấu khóa, vật mang giỏ và vòng bi (nếu có thể).

- Kiểm tra, vệ sinh máy nén, dàn trao đổi nhiệt đối với máy ly tâm lạnh.

##### 4.1.5. Kết thúc bảo dưỡng

- Kết nối lại nguồn điện

- Kiểm tra cân bằng

- Chạy thử và quan sát hoạt động của thiết bị

- Kiểm tra thông số của thiết bị thông qua máy đo tốc độ vòng quay

- Thu dọn đồ đạc, dụng cụ, phân loại chất thải, đồ bảo hộ theo quy định của PTN.

- Ghi chép hồ sơ theo quy định: biên bản báo cáo bảo dưỡng

#### **4.2. Nhận định kết quả**

Vận hành thiết bị sau khi bảo dưỡng xong, đánh giá các chức năng của thiết bị và bàn giao lại cho khách hàng.

#### **4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ**

##### **4.3.1. Trả kết quả**

- Toàn bộ nội dung bảo dưỡng, tình trạng thiết bị trước và sau bảo dưỡng được thể hiện trong “Biên bản báo cáo bảo dưỡng”

- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo các thông tin trong “Biên bản báo cáo bảo dưỡng” đúng và đầy đủ theo quy trình trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.

- Người có thẩm quyền phê duyệt và chịu trách nhiệm về “Biên bản báo cáo bảo dưỡng”.

- Trả “Biên bản báo cáo bảo dưỡng” cho khách hàng.

##### **4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu**

Biên bản báo cáo bảo dưỡng

##### **4.3.3. Hồ sơ**

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm)

### **5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

#### **5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật**

- Không kiểm tra đầy đủ tình trạng thiết bị: Tiến hành rà soát toàn diện, ghi chép chi tiết các hư hỏng, lỗi kỹ thuật hiện có.

- Thiếu dụng cụ, vật tư thay thế: Chuẩn bị đầy đủ các linh kiện, dụng cụ cần thiết trước khi bắt đầu bảo dưỡng.

- Không có bản hướng dẫn sử dụng, bảo dưỡng: In hoặc tra cứu hướng dẫn kỹ thuật của nhà sản xuất.

#### **5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Tháo lắp không đúng kỹ thuật: Thực hiện từng bước theo đúng hướng dẫn, chú ý đánh dấu vị trí các chi tiết trước khi tháo.

- Sử dụng sai hóa chất làm vệ sinh: Kiểm tra kỹ thành phần hóa chất, sử dụng đúng loại được khuyến cáo cho từng thiết bị.

- Không sử dụng bảo hộ cá nhân: Luôn sử dụng đầy đủ trang bị bảo hộ cá nhân theo quy định của PTN

- Để dụng cụ, linh kiện bừa bãi: Sắp xếp ngăn nắp, đúng vị trí để tránh thất lạc và nhầm lẫn.



- Thiếu tập trung, mất an toàn: Dừng ngay thao tác nếu cảm thấy mệt mỏi hoặc bị phân tâm.

### **5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Không kiểm tra hoàn chỉnh thiết bị: Tiến hành kiểm tra chức năng, độ chính xác của từng bộ phận. Vận hành thử và xác nhận tình trạng hoạt động tốt trước khi bàn giao.

- Thiếu ghi chép nhật ký bảo dưỡng: Bổ sung đầy đủ thông tin về các thao tác đã thực hiện.

- Để sót dụng cụ bên trong thiết bị: Kiểm tra kỹ, lấy ra toàn bộ dụng cụ, vật tư.

- Không làm sạch hoàn toàn: Tiến hành làm sạch kỹ lưỡng, loại bỏ hoàn toàn vết bẩn.

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

Không áp dụng

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- WHO's Maintenance manual for laboratory equipment – 2nd edition 2008 WHO
- CDC's Cleaning and Disinfecting Guidance – 2021
- Thermo scientific Sorvall Legend X1R Centrifuge manual.
- Hettich Rotina A380R operator's manual



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 298:  
BẢO DƯỠNG MÁY RỬA ELISA THEO HƯỚNG DẪN  
CỦA NHÀ SẢN XUẤT**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện bảo dưỡng máy rửa ELISA nhằm đảm bảo máy hoạt động ổn định.

### **1.2. Định nghĩa**

#### 1.2.1. Định nghĩa

Không áp dụng

#### 1.2.2. Từ viết tắt

Không áp dụng

### **1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Bảo dưỡng: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán và phiên giải kết quả: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Xem xét và phê duyệt: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư**

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Cồn 70%

- Nước cất 2 lần.

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Bộ dụng cụ thông kim.

- Khẩu trang y tế.

- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Găng tay y tế
- Giấy thấm.
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim, tem,...

Bảo quản sinh phẩm, hóa chất, vật tư tiêu hao theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất..

### 2.3. Thiết bị

- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm hoặc tương đương

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Loại mẫu: các loại máy rửa ELISA.
- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu trước khi tiếp nhận.

#### 2.4.2. Kiểm tra bên ngoài trước khi bảo dưỡng

Thông tin thiết bị: Ký hiệu, nhãn hiệu trên thiết bị phải rõ ràng, bao gồm: Tên thiết bị, model, serial, nơi sản xuất, nơi sử dụng, ...

#### 2.4.3. Kiểm tra kỹ thuật

- Nguồn điện cấp đảm bảo an toàn cho người và thiết bị.
- Các nút nhấn hoạt động tốt không bị đơ, cứng.

#### 2.4.4. Xác định chuẩn sử dụng

Không áp dụng

### 2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn

Không áp dụng.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện là 07 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại nơi đặt máy rửa ELISA

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Kiểm tra trước bảo dưỡng

- Vận hành thiết bị và cho chạy 1 chương trình rửa.
- Quan sát hoạt động của thiết bị để kiểm tra:

*Stuor*

*mm*



+ Hoạt động của hệ cơ: hệ thống các mô tơ hoạt động bình thường, không quá nóng, không có tiếng kêu bất thường, không giật cục, hoạt động trơn tru, các chuyển động của plate và manifold ổn định.

+ Hoạt động của hệ thống bơm: theo dõi hoạt động của các bơm hút, bơm xả. Kiểm tra lượng chất rửa trong từng giếng sau mỗi chu trình bơm, hút (có đồng đều không, có quá ít hoặc quá nhiều không), kiểm tra sự rò rỉ của chất rửa, xả trên các đường ống, trên manifold, các khớp nối. Các bơm hoạt động bình thường, không nóng, không có tiếng kêu bất thường.

+ Hoạt động của hệ thống điều khiển: kiểm tra hoạt động của hệ thống cài đặt (màn hình, nút nhấn, chương trình)

- Kiểm tra xong, tắt thiết bị, ngắt nguồn điện trước khi tiến hành bảo dưỡng.

#### 4.1.2. Bảo dưỡng bên ngoài

- Dụng cụ: giấy thấm lau sạch, cồn 70%, nước cất, bóp hơi,

- Vệ sinh xung quanh thiết bị.

- Kiểm tra, vệ sinh, gia cố các cổng kết nối dữ liệu, nguồn, các công tắc...

- Vệ sinh các ống nước rửa đầu vào, vệ sinh ống xả thải bằng nước cất.

- Vệ sinh bình chứa nước cấp và nước thải.

#### 4.1.3. Bảo dưỡng hệ cơ

- Dụng cụ: Bộ dụng cụ, cồn 70%, mỡ, giẻ lau sạch.

- Vệ sinh giá đỡ plate.

- Vệ sinh làm sạch các bề mặt làm việc của các thanh trượt, rãnh trượt, rãnh dẫn hướng...

- Kiểm tra, vệ sinh, tra mỡ hệ thống truyền động (dây curoa, ổ bi, cam, cơ cấu lắc...).

- Tra mỡ vào các rãnh trượt đĩa plate, chốt trượt manifold, khớp lắc.

#### 4.1.4. Bảo dưỡng hệ bơm

- Dụng cụ: Bộ thông kim, bóp hơi, giẻ lau sạch.

- Vệ sinh manifold và các đầu hút xả trên manifold.

- Vệ sinh kiểm tra các bơm hút xả và các đường ống.

- Nếu có hiện tượng rò rỉ, vệ sinh hoặc đề nghị thay thế các chi tiết bị hư hỏng (đường ống, các siêu, khớp nối...).

#### 4.1.5. Bảo dưỡng hệ thống nguồn, điều khiển

- Dụng cụ: Bóp hơi, giẻ lau sạch, cồn 70%.

- Kiểm tra, vệ sinh các bo mạch, các dây cáp nối.

- Kiểm tra, vệ sinh hệ thống giải nhiệt: quạt, tấm giải nhiệt.

- Kiểm tra vệ sinh hệ thống phím bấm, màn hình điều khiển.

- Vệ sinh các sensor.
- Kiểm tra, vệ sinh cầu chì, đảm bảo các điểm tiếp xúc sạch sẽ.

#### 4.1.6. Kiểm tra sau bảo dưỡng

- Thiết lập chương trình chạy thử hoặc chạy thử chương trình có sẵn và quan sát hoạt động rửa của thiết bị.

#### 4.1.7. Khử nhiễm và xử lý mẫu

Thiết bị sau khi bảo dưỡng được vệ sinh sạch sẽ.

### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

### 4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

#### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả bảo dưỡng vào biểu mẫu Giấy chứng nhận bảo trì, bảo dưỡng.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả bảo dưỡng chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Trả kết quả bảo dưỡng cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Không áp dụng

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm).

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Không áp dụng.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- WHO, 2008. Maintenance manual for Laboratory equipment 2<sup>nd</sup> edition.

2788

- Pw40/PW 41 Microplate washer user manual



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 299:**  
**BẢO DƯỠNG KÍNH HIỂN VI THEO HƯỚNG DẪN**  
**CỦA NHÀ SẢN XUẤT**

**1. ĐẠI CƯƠNG****1.1. Mục đích**

- Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện bảo dưỡng kính hiển vi nhằm đảm bảo máy hoạt động ổn định.

**1.2. Định nghĩa**

## 1.2.1. Định nghĩa

Không áp dụng

## 1.2.2. Từ viết tắt

Không áp dụng

**1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng

**2. CHUẨN BỊ****2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Bảo dưỡng: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán và phiên giải kết quả: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Xem xét và phê duyệt: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

**2.2. Vật tư**

## 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Dung dịch rửa kính chuyên dụng

- Cồn 70%

## 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Khẩu trang y tế.

- Găng tay y tế

- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Giấy thấm.
- Giấy lau kính chuyên dụng
- Bộ mở khóa vật kính chuyên dụng
- Giấy chứng nhận bảo dưỡng
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghimtem bảo ...

Bảo quản sinh phẩm, hóa chất, vật tư tiêu hao theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### **2.3. Thiết bị**

- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm hoặc tương đương

### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu**

#### **2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận**

- Loại mẫu: các loại kính hiển vi.
- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu trước khi tiếp nhận.

#### **2.4.2. Kiểm tra bên ngoài trước khi bảo dưỡng**

Thông tin thiết bị: Ký hiệu, nhãn hiệu trên thiết bị phải rõ ràng, bao gồm: Tên thiết bị, model, serial, nơi sản xuất, nơi sử dụng, ...

#### **2.4.3. Kiểm tra kỹ thuật**

- Nguồn điện cấp đảm bảo an toàn cho người và thiết bị.
- Môi trường sạch sẽ, không có bụi bẩn, không gần các cửa sổ có ánh sáng mặt trời.

- Bàn làm việc chắc chắn, tránh xa các thiết bị rung (máy trộn, máy ly tâm).
- Không được để trong môi trường nhiệt độ thay đổi lớn, độ ẩm cao.

#### **2.4.4. Xác định chuẩn sử dụng**

Không áp dụng

### **2.5. Phiếu chỉ định bảo dưỡng**

Không áp dụng.

### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Tổng thời gian thực hiện là 07 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

- Tại nơi đặt kính hiển vi.

## **3. AN TOÀN**

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Kiểm tra trước bảo dưỡng.

- Quan sát một mẫu vật dưới kính hiển vi tại tất cả các vật kính để kiểm tra, xem xét có bóng mờ, các họa tiết có sắc nét, ánh sáng cố đồng đều trong trường quan sát hay không.

- Có bụi và chất bẩn trong trường quan sát hay không.

#### 4.1.2. Tiến hành bảo dưỡng

##### a) Vệ sinh bên ngoài

- Dùng bóp hơi xịt bụi nhẹ nhàng xịt toàn bộ bên ngoài máy theo hướng từ trên xuống dưới, từ trong ra ngoài.

- Dùng khăn sạch mềm lau lại toàn bộ máy.

##### b) Kiểm tra cơ học

- Các núm điều chỉnh tiêu cự thô, tinh:

+ Các nút điều chỉnh được xoay nhẹ nhàng, không bị quá nặng hoặc nặng nhẹ không đồng đều.

+ Mức độ điều chỉnh độ nặng nhẹ của nút chỉnh thô có thể điều chỉnh được.

+ Nút chỉnh giới hạn của núm điều chỉnh thô hoạt động tốt.

- Giá đặt mẫu vật:

+ Cao độ của giá đặt mẫu vật ổn định theo thời gian.

+ Mẫu vật được giữ chắc chắn trong bộ phận kẹp.

+ Cơ cấu điều chỉnh giá theo chiều X,Y hoạt động tốt, nhẹ nhàng, không có độ rơ.

- Giá xoay vật kính: Có thể xoay giá dễ dàng và giá dừng lại tại khớp dừng, không có độ rơ.

- Núm điều chỉnh tụ quang: cụm tụ quang lên xuống nhẹ nhàng, không giật cục.

- Tra mỡ nếu cần thiết.

##### c) Kiểm tra các bóng đèn

- Kiểm tra thời gian dùng đèn.

- Kiểm tra độ sạch của bóng đèn, dùng giấy mềm lau bụi bẩn trên bóng đèn, không để tay trần tiếp xúc với bóng.

##### d) Vệ sinh các thấu kính

- Trước khi vệ sinh, đeo găng tay cao su không bột.

- Trước khi lau, dùng bóp hơi xịt bụi để thổi bụi nằm trên các thấu kính.

- Lau các thấu kính trong thị kính: phía trong và phía ngoài.

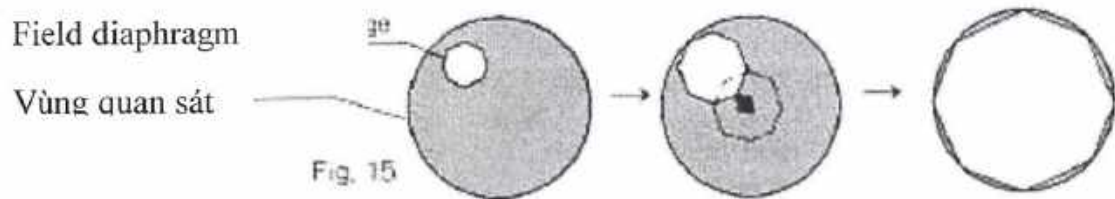
- Kiểm tra và lau các thấu kính bên trong ocular nếu bị dơ.



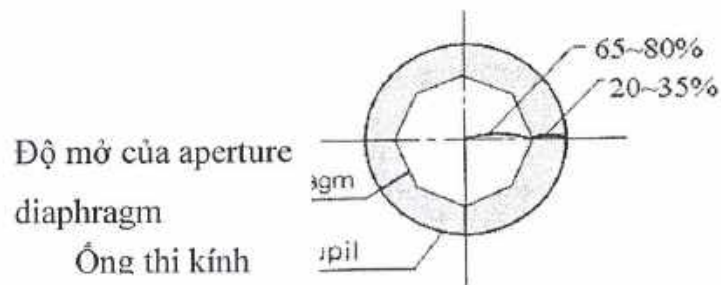
- Lau các vật kính, các hốc đặt vật kính.
- Lau các thấu kính của cụm tụ quang.
- Lau các kính của cụm đèn chiếu.

e) *Chỉnh tâm hộp tụ quang.*

- Mở nguồn kính hiển vi. Chỉnh độ sáng đèn thích hợp.
- Điều chỉnh thị kính phù hợp.
- Hạ gá đặt mẫu vật, đặt mẫu vật lên gá.
- Nâng tụ quang lên, chú ý không để tụ quang chạm vào mẫu vật.
- Xoay vật kính sang độ phóng đại 10X, lấy tiêu cự mẫu vật.
- Đóng field diaphragm sao cho field diaphragm nằm trong vùng quan sát.



- Điều chỉnh ốc để đưa field diaphragm vào giữa tâm vùng quan sát.
- Mở field diaphragm ra ngoài vùng quan sát, sao cho field diaphragm nội tiếp đường tròn vùng quan sát.
- Lấy 1 thị kính ra, nhìn vào ống thị kính, đóng aperture diaphragm sao cho vòng tròn sáng chiếm 2/3 vùng nhìn.



#### 4.1.3. Kiểm tra sau bảo dưỡng

- Kiểm tra một mẫu vật.
- Mẫu vật quan sát ổn định, không bị nhòe, bóng mờ, hình ảnh không đều...
- Không có bụi trong vùng quan sát.

#### 4.1.4. Khử nhiễm và xử lý mẫu:

Thiết bị sau khi bảo dưỡng được vệ sinh sạch sẽ.

## 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

## 4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả bảo dưỡng vào biểu mẫu Giấy chứng nhận bảo dưỡng.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả bảo dưỡng chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Trả kết quả bảo dưỡng cho khách hàng.

### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Không áp dụng

### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm).

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thao tác không cẩn thận có thể dẫn đến rơi vỡ vật kính, thị kính, làm trầy xước mặt kính. Cần thao tác cẩn thận khi thực hiện.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Không áp dụng.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- WHO, 2008. Maintenance manual for Laboratory equipment 2<sup>nd</sup> edition.
- Basic microcroscope alignment: a brief tutorial – Douglas W. Cromey, MS. – Manager, Cellular Imaging Core, Southwest Environmental Health Sciences Center, University of Arizona, Tucson, Arizona.
- Olympus CX21 Maintenance manual.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 300:**  
**BẢO DƯỠNG MÁY CẮT NƯỚC THEO HƯỚNG DẪN**  
**CỦA NHÀ SẢN XUẤT**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

- Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện bảo dưỡng máy cắt nước nhằm đảm bảo máy hoạt động ổn định.

### **1.2. Định nghĩa**

#### 1.2.1. Định nghĩa

Không áp dụng

#### 1.2.2. Từ viết tắt

Không áp dụng

### **1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Bảo dưỡng: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán và phiên giải kết quả: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Xem xét và phê duyệt: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư**

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Dung dịch ngâm điện trở

- Còn 70%

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Khẩu trang y tế.

- Găng tay y tế.



- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Giấy thấm.
- Giấy chứng nhận bảo dưỡng.
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghimtem bảo ...

Bảo quản sinh phẩm, hóa chất, vật tư tiêu hao theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm hoặc tương đương

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Loại mẫu: các loại máy cắt nước.
- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu trước khi tiếp nhận.

#### 2.4.2. Kiểm tra bên ngoài trước khi bảo dưỡng

Thông tin thiết bị: Ký hiệu, nhãn hiệu trên thiết bị phải rõ ràng, bao gồm: Tên thiết bị, model, serial, nơi sản xuất, nơi sử dụng, ...

#### 2.4.3. Kiểm tra kỹ thuật

Kiểm tra kỹ thuật theo các yêu cầu sau đây:

- Thiết bị phải được nối đất.
- Các dây dẫn phải được tiếp xúc tốt, các CB gắn chắc chắn.
- Các phím bấm hoạt động bình thường, không bị đơ, cứng.
- Các ống cấp, thoát nước được kết nối chắc chắn, không có hiện tượng rò rỉ nước.
- Phần nối giữa bình đun và bình ngưng tụ phải kín, không có hơi nước rò ra ngoài.

#### 2.4.4. Xác định chuẩn sử dụng

Không áp dụng

### 2.5. Phiếu chỉ định bảo dưỡng

Không áp dụng.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện là 09 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại nơi đặt máy cắt nước.

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

- Trước khi bảo dưỡng, tắt thiết bị, ngắt nguồn điện.

#### 4.1.1. Bảo dưỡng bên ngoài

- Tắt nguồn điện, chờ thiết bị nguội hoàn toàn (nếu thiết bị đang hoạt động).

- Tắt nguồn nước cấp.

- Mở ống xả cho nước trong bình chứa chảy ra hoàn toàn, sau đó đóng ống xả lại.

- Kiểm tra, vệ sinh các ống dẫn nước, van kết nối.

- Kiểm tra lưới lọc, bộ lọc nước vào nếu dơ, nghẹt thì vệ sinh hoặc đề nghị thay thế.

- Kiểm tra, vệ sinh các đường ống nước ra và nước xả.

- Vệ sinh các bảng mạch điện, kiểm tra các dây nối.

#### 4.1.2. Bảo dưỡng hệ thống cất nước

- Tháo hệ thống ngưng tụ ra khỏi máy (nếu được).

- Kiểm tra bình đun và điện trở bên trong:

+ Nếu điện trở nhiệt trần: sử dụng dung dịch tẩy bao gồm 10% acid formic, 10% acid acetic, 80% nước cất.

+ Nếu điện trở nhiệt được bảo vệ: dung dịch tẩy bao gồm 100mL HCl đậm đặc và 1000mL nước cất.

- Vệ sinh bình đun và điện trở:

+ Đổ vào bình đun hỗn hợp dung dịch tẩy sao cho hỗn hợp này ngập phần điện trở và cao hơn mực nước khi máy làm việc khoảng 10mm.

+ Để 1 khoảng thời gian ít nhất 3h cho acid bắt đầu làm sạch các cặn bám dính trên thành bình và điện trở (thời gian này tùy thuộc vào độ dơ của bình và điện trở)

+ Mở ống xả để xả nước acid ra thùng bên ngoài. Chú ý không được xả trực tiếp ra hệ thống thoát nước của cơ quan.

+ Đóng ống xả, mở nước vào đầy bình, tắt nước, mở ống xả. Làm lại quá trình trên ít nhất 3 lần để xả hết lượng acid trong bình.

- Đổ dung dịch tẩy như trên vào ống xoắn ốc trong bình ngưng tụ, lắc đều. Trước khi đổ phải đảm bảo bịt kín các đầu ra của ống xoắn ốc. Để 1 khoảng thời gian để acid hòa tan các chất cặn, rồi xả bằng nước ít nhất 3 lần để làm sạch lượng acid tồn dư.

- Vệ sinh mặt ngoài của bình đun và bình ngưng tụ bằng vải ẩm.

- Lắp đặt lại tất cả vào hệ thống. Kiểm tra lại các khớp nối.

- Vệ sinh, làm sạch bề mặt làm việc và xung quanh thiết bị.

- Vận hành thiết bị ổn định, loại bỏ nước cất sau bảo trì từ 10-20 phút.

- Kiểm tra lại chất lượng nước sau khi cất.

**Chú ý:** Đối với các khớp nối phải vận nhẹ nhàng, tránh bị vỡ các khớp và các ren trên bình thủy tinh.

#### 4.1.3. Khử nhiễm và xử lý mẫu:

Thiết bị sau khi bảo dưỡng được vệ sinh sạch sẽ.

#### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

#### 4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả bảo dưỡng vào biểu mẫu Giấy chứng nhận bảo trì, bảo dưỡng.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả bảo dưỡng chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.

- Trả kết quả bảo dưỡng cho khách hàng.

##### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Không áp dụng

##### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm).

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thao tác không cẩn thận có thể dẫn đến vỡ bình chứa và các ống sinh hàn bằng thủy tinh, các vị trí nối ống dẫn nước bị hở. Cần thao tác cẩn thận và kiểm tra kỹ càng sau khi thực hiện.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Không áp dụng.

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- WHO, 2008. Maintenance manual for Laboratory equipment 2<sup>nd</sup> edition.
- Aquatron Automatic Water Stills- Assembly and operation instruction.



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 301:  
BẢO DƯỠNG MÁY ĐỌC ELISA THEO HƯỚNG DẪN  
CỦA NHÀ SẢN XUẤT**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện bảo dưỡng máy đọc ELISA nhằm đảm bảo máy hoạt động ổn định.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.3. Định nghĩa**

Không áp dụng

#### **1.2.4. Từ viết tắt**

Không áp dụng

### **1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Bảo dưỡng: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán và phiên giải kết quả: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Xem xét và phê duyệt: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư**

#### **2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

- Còn 70%

#### **2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Khẩu trang y tế.

- Găng tay y tế

- Trang bị bảo hộ cá nhân

- Giấy thấm.
  - Giấy chứng nhận bảo dưỡng
  - Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim, tem bảo ...
- Bảo quản sinh phẩm, hóa chất, vật tư tiêu hao theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Phiến chuẩn máy ELISA.
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm hoặc tương đương

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Loại mẫu: các loại máy đọc ELISA.
- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu trước khi tiếp nhận.

#### 2.4.2. Kiểm tra bên ngoài trước khi bảo dưỡng

Thông tin thiết bị: Ký hiệu, nhãn hiệu trên thiết bị phải rõ ràng, bao gồm: Tên thiết bị, model, serial, nơi sản xuất, nơi sử dụng, ...

#### 2.4.5. Kiểm tra kỹ thuật

- Nguồn điện cấp đảm bảo an toàn cho người và thiết bị.
- Kiểm tra sự kết nối với máy tính (nếu có).
- Các nút nhấn hoạt động tốt không bị đơ, cứng.

#### 2.4.6. Xác định chuẩn sử dụng

Sử dụng phiến chuẩn máy ELISA

### 2.5. Phiếu yêu cầu bảo dưỡng

Không áp dụng.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Tổng thời gian thực hiện là 11 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại phòng đặt máy đọc ELISA

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.2. Các bước thực hiện

- Trước khi bảo trì, tắt thiết bị, ngắt nguồn điện.

#### 4.1.1. Bảo trì bên ngoài

- Dụng cụ: Giấy thấm, cồn 70%, bóp hơi.

- Vệ sinh xung quanh thiết bị: Dùng búp hơi thổi sạch bụi xung quanh máy, dùng giấy thấm cồn 70° khử trùng toàn bộ máy.

#### 4.1.2. Bảo trì bên trong

- Dụng cụ: Giấy thấm, cồn 70%, búp hơi, tăm bông, giấy lau kính, nước lau kính.
- Dùng giấy thấm cồn vệ sinh sạch sẽ tấm đặt plate.
- Dùng tăm bông vệ sinh sạch sẽ các lỗ trên tấm đặt plate.
- Dùng giấy lau kính thấm nước lau kính lau các kính lọc và dùng khăn khô mềm sạch lau bóng đèn, chú ý không để tay trần chạm vào bóng, nếu lỡ chạm vào, phải lau chùi lại thật sạch.

- Kiểm tra cơ cấu vận chuyển tấm plate: dây curoa.

- Vệ sinh hệ thống truyền nhận quang học: Tháo các bao che, dùng búp hơi xịt bụi xịt các đầu dây quang, các tấm kính truyền quang ở bộ phận phát và thu.

- Vệ sinh các board mạch điện, kiểm tra các cổng kết nối giữa các board, kiểm tra và vệ sinh cầu chì.

- Kiểm tra độ thẳng của khay.

#### 4.1.3. Kiểm tra độ rọi của đèn

- Dụng cụ: Phiến chuẩn Elisa.

- Đo độ hấp thụ của máy tại các bước sóng tại 2 thời điểm cách nhau 30 phút. Sai số của 2 lần đo không được lớn hơn độ chính xác của máy.

#### 4.1.4. Khử nhiễm và xử lý mẫu:

Thiết bị sau khi bảo dưỡng được vệ sinh sạch sẽ.

### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

### 4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

#### 4.3.1 Trả kết quả

- Nhập kết quả bảo dưỡng vào biểu mẫu Giấy chứng nhận bảo dưỡng.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả bảo dưỡng chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Trả kết quả bảo dưỡng cho khách hàng.

#### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Không áp dụng

#### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.

- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm).



## **5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **5.4. Trước khi thực hiện kỹ thuật**

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng

### **5.5. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật**

### **5.6. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

Không áp dụng.

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- WHO, 2008. Maintenance manual for Laboratory equipment 2<sup>nd</sup> edition.



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 302:  
BẢO DƯỠNG MÁY Ủ ELISA THEO HƯỚNG DẪN  
CỦA NHÀ SẢN XUẤT**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn phương pháp, phương tiện bảo dưỡng máy ủ ELISA nhằm đảm bảo máy hoạt động ổn định.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Định nghĩa**

Không áp dụng.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

Không áp dụng.

### **1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Kiểm tra và tiếp nhận thiết bị, chuẩn bị máy: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Bảo dưỡng: Trình độ cao đẳng trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tính toán và phiên giải kết quả: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Xem xét và phê duyệt: Trình độ đại học trở lên, chuyên ngành thuộc Khoa học tự nhiên, kỹ thuật, công nghệ kỹ thuật, khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

### **2.2. Vật tư**

#### **2.2.3. Sinh phẩm, hoá chất**

- Còn 70%.

#### **2.2.4. Vật tư tiêu hao**

- Đầu dò nhiệt độ thay thế.

- Khẩu trang y tế.

- Găng tay y tế

- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Giấy thấm.
- Giấy chứng nhận bảo dưỡng
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim, tem bảo ...

Bảo quản sinh phẩm, hóa chất, vật tư tiêu hao theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

### 2.3. Thiết bị

- Bộ đo nhiệt độ đa kênh.
- Thiết bị đo nhiệt độ, độ ẩm hoặc tương đương.

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu

#### 2.4.2. Chuẩn bị mẫu và tiếp nhận

- Loại mẫu: các loại máy ủ ELISA.
- Kiểm tra tình trạng hoạt động của mẫu trước khi tiếp nhận.

#### 2.4.2. Kiểm tra bên ngoài trước khi bảo dưỡng

Thông tin thiết bị: Ký hiệu, nhãn hiệu trên thiết bị phải rõ ràng, bao gồm: Tên thiết bị, model, serial, nơi sản xuất, nơi sử dụng, ...

#### 2.4.7. Kiểm tra kỹ thuật

- Nguồn điện cấp đảm bảo an toàn cho người và thiết bị.
- Các nút nhấn hoạt động tốt không bị đơ, cứng.

#### 2.4.8. Xác định chuẩn sử dụng

Sử dụng bộ đo nhiệt độ đa kênh.

### 2.5. Phiếu chỉ định hiệu chuẩn

Không áp dụng.

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật:

Tổng thời gian thực hiện là 08 giờ (đã bao gồm các vị trí công việc).

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại phòng đặt máy ủ ELISA

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học, an toàn lao động, an toàn điện tương ứng với các quy định hiện hành.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.3. Các bước thực hiện

- Trước khi bảo trì, tắt thiết bị, ngắt nguồn điện.

#### 4.1.1. Bảo trì bên ngoài



- Dụng cụ: giấy thấm lau sạch, cồn 70%, bóp hơi.
- Vệ sinh xung quanh thiết bị.
- Vệ sinh các tấm plate gia nhiệt.
- Vệ sinh quạt giải nhiệt

#### 4.1.2. Kiểm tra độ chính xác của nhiệt độ hiển thị

- Dụng cụ: Bộ đo ghi nhiệt độ 8 kênh của hãng Madgetech.
- Gá lắp các đầu dò vào giữa các tấm gia nhiệt, sao cho đầu dò tiếp xúc với tấm plate.
- Mở điện, đặt nhiệt độ theo yêu cầu cần kiểm tra của máy.
- Sau khi nhiệt độ máy ủ đạt đến trạng thái ổn định (quan sát bộ chỉ thị của máy và chỉ thị của các đầu đo nhiệt chuẩn trong máy thấy giá trị nhiệt độ không thay đổi hoặc nhiệt độ thay đổi dao động xung quanh một giá trị tương ứng hoặc lân cận với giá trị nhiệt độ được đặt) khoảng 10 phút, tiến hành ghi giá trị nhiệt độ trên bộ chỉ thị của máy ủ, đồng thời cài đặt để các thiết bị đo, ghi nhiệt độ chuẩn bắt đầu ghi nhiệt độ thực tế trong máy. Thời gian ghi là 5 phút/lần.
- Sau khi kết thúc thời gian ghi nhiệt độ, kết nối các bộ đo, ghi nhiệt độ với máy tính để lấy các dữ liệu nhiệt độ ghi được.
- Độ chính xác chỉ thị tại từng điểm hiệu chuẩn nhiệt độ được tính bằng hiệu giữa giá trị trung bình nhiệt độ thực của thiết bị chuẩn và giá trị trung bình nhiệt độ chỉ thị trên thiết bị cần bảo dưỡng.

$$SHC = \overline{T_{thuc}} - \overline{T_{chithi}}$$

Trong đó:

SHC: số hiệu chỉnh tại nhiệt độ kiểm tra

$\overline{T_{chithi}}$ : Giá trị nhiệt độ trung bình chỉ thị của thiết bị cần bảo dưỡng tại nhiệt độ kiểm tra.

$\overline{T_{thuc}}$ : Nhiệt độ trung bình của thiết bị chuẩn tại nhiệt độ kiểm tra, được tính theo công thức:

$$\overline{T_{thuc}} = \frac{\sum T_{thuci}}{n}$$

Với:  $T_{thuci} = (\overline{T_{doi}} + \beta Ti)$

Trong đó:

$T_{thuci}$ : Nhiệt độ thực đo của thiết bị tại các vị trí thứ i

$\overline{T_{doi}}$ : Nhiệt độ trung bình của các đầu đo nhiệt chuẩn tại các vị trí thứ i.

$\beta Ti$ : Số hiệu chỉnh nhiệt độ tại các đầu đo thứ i của thiết bị chuẩn, lấy từ giấy chứng nhận hiệu chuẩn.

#### 4.1.3. Khử nhiễm và xử lý mẫu:

Thiết bị sau khi bảo dưỡng được vệ sinh sạch sẽ.

#### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

#### 4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả

- Nhập kết quả bảo dưỡng vào biểu mẫu Giấy chứng nhận, bảo dưỡng.
- Cán bộ được phân công kiểm tra, xem xét đảm bảo kết quả bảo dưỡng chính xác trước khi trình lãnh đạo phê duyệt.
- Trả kết quả bảo dưỡng cho khách hàng.

##### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

Không áp dụng

##### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử.
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm (hoặc PTN tự quy định nhưng không ít hơn 5 năm).

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra, tiếp nhận mẫu không kỹ dẫn đến mẫu không đủ điều kiện để thực hiện. Cần thông báo ngay lại cho khách hàng về tình trạng và nếu có sửa chữa, khắc phục thì cũng cần sự đồng ý của khách hàng.

#### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Không áp dụng.

#### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tính toán sai kết quả bảo dưỡng. Cần có người kiểm tra lại trước khi cung cấp kết quả.
- Tất cả các sai sót xuất hiện sau khi đã trả kết quả cho khách hàng thì người đại diện phải chính thức xin lỗi, thu hồi kết quả đã trả và cung cấp kết quả đúng lại cho khách.

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Không áp dụng.

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- WHO, 2008. Maintenance manual for Laboratory equipment 2<sup>nd</sup> edition.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 303:**  
**BỘ SINH PHẨM MAC-ELISA**  
**CHẨN ĐOÁN SỐT XUẤT HUYẾT DENGUE (IgM)**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này mô tả các hoạt động của quá trình quản lý, điều phối, sản xuất bộ sinh phẩm MAC-ELISA chẩn đoán sốt xuất huyết Dengue (IgM).

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

- **Tiêu chuẩn cơ sở:** là tiêu chuẩn sản phẩm, dịch vụ, quá trình, môi trường do người đứng đầu Cơ sở xây dựng và công bố để áp dụng trong các hoạt động của cơ sở.

- **Rủi ro:** Là khả năng xảy ra sự cố do một nguyên nhân với tần suất có thể gây ra mức độ ảnh hưởng tới chất lượng sản phẩm và an toàn cho người sản xuất.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- PTN: Phòng thí nghiệm
- MAC-ELISA: IgM Antibody Capture ELISA (Kỹ thuật miễn dịch gắn enzyme tóm bắt kháng thể IgM).
- SXHD: Sốt xuất huyết dengue
- QLKT: Quản lý kỹ thuật
- QLCL: Quản lý chất lượng
- HDSD: Hướng dẫn sử dụng
- STAT: Sổ tay An toàn Phòng thí nghiệm

### **1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Nhân lực trực tiếp: 02 nhân sự thực hiện kỹ thuật có trình độ đại học trở lên khối ngành khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương hoặc có trình độ phù hợp, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Người lập kế hoạch, phê duyệt kết quả: 01 nhân sự có trình độ đại học trở lên, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiết trùng, khử nhiễm: trình độ 12/12 trở lên, được đào tạo về quy trình chuyên môn.



## 2.2. Vật tư tiêu hao:

### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Chủng giống: Vi rút Dengue type 1, 2 3 và 4.
- Chuột Swiss trắng 1- 3 ngày tuổi.
- Dung dịch PBS (-)
- Protaminsulfate 1%
- Formalin 10%
- Mẫu huyết thanh dương tính của bệnh nhân SXHD
- Mẫu huyết thanh âm tính từ người lành
- Kháng thể IgG kháng IgM người đặc hiệu chuỗi  $\mu$ .
- Dung dịch phủ bản, pH 9,6
- Dung dịch BSA 1%
- Kháng thể đơn dòng kháng Flavi đặc hiệu với vi rút Dengue
- Enzym HRPO.
- NaIO<sub>4</sub> 0,1M.
- NaBH<sub>4</sub> (4mg/mL)
- 1 mM Sodium acetate pH 4,4
- 10 mM Sodium carbonate pH 9,5
- Albumin bò.
- Dung dịch đỏ phenol 0,2%

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Hệ thống chai và dây hút não chuột.
- Bơm kim tiêm 1 mL.
- Ống đong, chai 100 mL, 500 mL, 1000 mL.
- Quần áo bảo hộ.
- Chai thủy tinh trung tính loại 1 L, 2 L, 5 L
- Lọ thủy tinh 3 mL/4 mL, nút cao su, nắp nhôm đường kính 13mm, dập nút.
- Băng dính, nhãn.
- Đầu côn (típ) có lọc 0.5, 10, 20, 200 và 1000  $\mu$ L.
- Đầu côn các loại.
- Micropipet đơn kênh các loại
- Micropipet đa kênh 50-300  $\mu$ L.
- Pipet dispenser (pipet chia mẫu), đầu tip tương ứng 1 mL, 5 mL.
- khay đá (icepack).

*Handwritten signatures in blue ink.*

- Thanh nhựa 16 giếng (16F)
- Màng thấm tích.
- Ống đong, chai thủy tinh các loại.
- Lọ thủy tinh 2 mL-3 mL, nút cao su đường kính 13 mm, nắp nhôm đường kính 13mm, đập nút.
- Nút cao su, nắp nhôm đường kính 20 mm.
- Dụng cụ đập nút đường kính 20 mm.
- Túi zip, túi ni-lon để đóng gói sinh phẩm
- Cồn 70%
- Bút viết ống nghiệm
- Phanh, kéo
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

### **2.3. Thiết bị**

- Máy nghiền não
- Bơm chân không
- Máy ly tâm
- Máy khuấy từ
- Máy ủ nhiệt.
- Tủ lạnh (2-8) °C
- Tủ lạnh âm sâu -70 °C
- Tủ lạnh âm -20 °C
- Tủ an toàn sinh học
- Máy đo pH
- Cân điện tử 2-6 số
- Hệ thống ELISA (máy đọc phiên, rửa phiên, ủ phiên ELISA)

### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm**

Không áp dụng

### **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

Không áp dụng

### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Thời gian từ khi lập kế hoạch đến khi xuất xưởng thành phẩm: 480 giờ x 2 người

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Sản xuất, đánh giá tại phòng xét nghiệm.

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học cấp II.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

#### 4.1.1. Công bố tiêu chuẩn cơ sở

- Ban hành tiêu chuẩn cơ sở để công bố đối với sản phẩm theo quy định chung cho một sản phẩm được thương mại.

#### 4.1.2. Lập kế hoạch sản xuất sinh phẩm

- Quản lý kỹ thuật theo kế hoạch định kỳ sản xuất 01 lần/năm, hoặc theo đơn đặt hàng, bản lập kế hoạch sản xuất sinh phẩm, xin phê duyệt của lãnh đạo phụ trách.

#### 4.1.3. Phê duyệt kế hoạch

- Nếu duyệt chuyển kế hoạch sản xuất xuống bộ phận sản xuất để tiến hành sản xuất lô sinh phẩm, nếu không duyệt quay lại bước 4.1.1.

#### 4.1.4. Sản xuất từng thành phần của bộ sinh phẩm

##### a. Sản xuất thanh nhựa gắn kháng thể kháng IgM người

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hoá chất, sinh phẩm để sản xuất thanh nhựa gắn kháng thể kháng IgM người.

- Chuẩn độ hiệu giá kháng thể kháng IgM người. Kiểm tra sinh phẩm bằng kỹ thuật MAC-ELISA.

- Xác định hiệu giá thích hợp để gắn kháng thể kháng IgM người vào thanh nhựa bằng kỹ thuật MAC-ELISA.

- Pha kháng thể kháng IgM người trong dung dịch phủ bản pH ở nhiệt độ và thời gian phù hợp để kháng thể đồng nhất trong dung dịch phủ bản. Gắn kháng thể lên thanh nhựa, cho 100µl/giếng để ở nhiệt độ và thời gian phù hợp.

- Lắp chỗ trống trên bề mặt giếng bằng PBS (-) có 1% BSA; để nhiệt độ nhiệt độ và thời gian phù hợp

- Rửa thanh nhựa bằng PBS (-).

- Kiểm tra thanh nhựa bằng kỹ thuật MAC-ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật.

- Đóng gói trong túi giấy bạc, dán nhãn.

- Bảo quản ở nhiệt độ thích hợp

##### b. Sản xuất cộng hợp

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu Sản xuất cộng hợp kháng vi rút flavi

- Dung dịch A: Hoạt hoá kháng thể kháng flavi bằng NaBH<sub>4</sub>: Thâm tích IgG trong dung dịch 10mM sodium carbonat pH phù hợp



- Dung dịch B: Hoạt hóa enzyme: 5mg HRPO pha trong 1mL nước cất cho 0,25 mL dung dịch NaIO<sub>4</sub> 0,1M quay điện. Sau đó thẩm tích trong dung dịch 1mM sodium acetate pH phù hợp.

- HỘn dung dịch A và B quay điện từ ở phòng thí nghiệm trong 2 giờ. Cho 0,1 mL NaIO<sub>4</sub> 0,1M và quay điện từ

- Tủa kháng thể gắn cộng hợp, loại bỏ enzyme thừa.

- Làm đồng nhất cộng hợp trong PBS (-), thẩm tích trong PBS (-), thay dung dịch thẩm tích 2 lần.

- Thu cộng hợp, thêm Glycetin.

- Pha loãng, xác định hiệu giá cộng hợp bằng kỹ thuật MAC-ELISA

- Chia cộng hợp ra lọ dưới dạng đặc 100 lần cho từng bộ sinh phẩm trên dây truyền lạnh.

- Kiểm tra các tiêu chí kỹ thuật của cộng hợp sau khi chia lọ bằng kỹ thuật MAC-ELISA.

- Dập nút nhôm, dán nhãn, bảo quản

#### c. Sản xuất kháng nguyên Dengue

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và biểu mẫu cho Sản xuất kháng nguyên dengue 4 type

- Tiêm hỗn dịch vi rút dengue type 1, 2, 3 và 4 vào não chuột ở 1-3 ngày tuổi giống Swiss.

- Sau 4 ngày chuột ốm liệt, gặt não chuột bằng máy hút chân không.

- Nghiền đồng nhất não chuột nhiễm vi rút 20% trong dung dịch Borat pH = 9 bằng máy nghiền. Ly tâm, loại bỏ cặn.

- Tủa nước nổi với protaminsulfate theo tỷ lệ 1% quay điện từ ở nhiệt độ và thời gian phù hợp.

- Ly tâm và thu hồi nước nổi.

- Bất hoạt kháng nguyên vi rút bằng Formalin để ở nhiệt độ và thời gian phù hợp.

- Chuẩn độ hiệu giá kháng nguyên để chọn hiệu giá sử dụng: lấy 200 µL kháng nguyên + 200 µL dung dịch pha loãng. Pha loãng bậc hai bằng dung dịch pha loãng và thực hiện kỹ thuật MAC-ELISA.

- Chia vào các lọ nhỏ, đập nút cao su đông, băng để đông khô.

- Kiểm tra hiệu giá kháng nguyên sau khi chia lọ và đông khô bằng kỹ thuật MAC-ELISA về các tiêu chuẩn kỹ thuật theo yêu cầu.

- Dập nút nhôm, dán nhãn.

#### d. Sản xuất chứng dương Dengue

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu Sản xuất chứng dương sốt xuất huyết Dengue

- Chọn mẫu huyết thanh bệnh nhân SXHD (đã được kiểm tra HIV, HBV âm tính)

dựa trên kết quả xét nghiệm bằng kỹ thuật MAC-ELISA, đủ tiêu chuẩn để làm mẫu chứng dương, hỗn lại.

- Bất hoạt ở 56 °C / 30 phút.

- Chia chứng dương ra lọ dưới dạng đặc 100 lần cho từng bộ sinh phẩm, đậy nút cao su.

- Kiểm tra mẫu chứng dương bằng kỹ thuật MAC-ELISA

- Dập nút nhôm, dán nhãn.

*e. Sản xuất chứng âm*

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và biểu mẫu sản xuất huyết thanh chứng âm

- Mẫu huyết thanh âm tính với vi rút dengue và các tác nhân lây truyền qua đường máu.

- Kiểm tra mẫu chứng âm bằng kỹ thuật MAC-ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật,

- Chia lọ huyết thanh chứng âm: 10 µL/ lọ.

- Kiểm tra mẫu huyết thanh chứng âm sau khi chia lọ bằng kỹ thuật MAC-ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật

- Dập nút nhôm, dán nhãn.

*f. Sản xuất dung dịch pha loãng*

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu Sản xuất dung dịch pha loãng

- Pha dung dịch PBS (-) cho đỏ phenol

- Sấy vô trùng.

- Lấy mẫu dung dịch pha loãng kiểm tra bằng kỹ thuật MAC-ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật

- Chia lọ 15 mL/ lọ, dung dịch pha loãng có màu đỏ nhạt, trong suốt, đậy nút cao su.

- Kiểm tra dung dịch pha loãng sau khi chia lọ bằng kỹ thuật MAC-ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật

- Dập nút nhôm, dán nhãn.

*g. Sản xuất dung dịch PBS – T (x25)*

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu Sản xuất dung dịch PBS – T (x 25)

- Pha dung dịch PBS (-) x 25

- Sấy vô trùng, để dung dịch nguội ở nhiệt độ phòng.

- Pha PBS-Tx25 bằng cách cho TWEEN 20 theo tỷ lệ 5%. Để TWEEN 20 làm đồng nhất trong dung dịch PBS (-) đặc 25 lần ít nhất là sau 24h.

- Lấy mẫu PBS – T (x 25) kiểm tra bằng kỹ thuật MAC – ELISA theo các tiêu

chuẩn kỹ thuật

- Chia lọ 10 mL/lọ, đậy nút cao su; PBS-T (x 25) trong không màu, lắc có bọt.

- Kiểm tra PBS – T (x 25) sau khi đã chia lọ bằng kỹ thuật MAC–ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật,

- Dập nút nhôm, dán nhãn.

*h. Sản xuất dung dịch cơ chất TMB*

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu sản xuất dung dịch cơ chất TMB

- Tính dung dịch cơ chất TMB cần sử dụng để ra thành phẩm.

- Lấy mẫu cơ chất TMB kiểm tra bằng kỹ thuật MAC – ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật

- Chia ra lọ 1mL/ lọ, cơ chất TMB trong suốt, không màu.

- Kiểm tra cơ chất TMB đã chia lọ bằng kỹ thuật MAC–ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật khi kết hợp cùng với 1mL dung dịch đệm pha cơ chất.

- Dập nút nhôm, dán nhãn.

*i. Sản xuất dung dịch đệm pha cơ chất*

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu sản xuất dung dịch đệm pha cơ chất

- Kiểm tra cảm quan dung dịch đệm pha cơ chất.

- Lấy mẫu đệm pha cơ chất kiểm tra bằng kỹ thuật MAC–ELISA về các tiêu chuẩn kỹ thuật theo yêu cầu.

- Chia ra lọ 1mL/ lọ, đệm pha cơ chất trong suốt, không màu.

- Kiểm tra đệm pha cơ chất đã chia lọ bằng kỹ thuật MAC – ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật.

- Dập nút nhôm, dán nhãn.

*j. Sản xuất dung dịch dừng phản ứng*

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu sản xuất dung dịch dừng phản ứng

- Pha dung dịch dừng phản ứng H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4N

- Lấy mẫu dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4N kiểm tra bằng kỹ thuật MAC–ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật

- Chia ra lọ 2 mL/ lọ, đậy nút cao su, dung dịch dừng phản không màu.

- Kiểm tra dung dịch dừng phản ứng H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4N đã chia ra lọ bằng kỹ thuật MAC–ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật, đạt chuyển xuống bước 4.1.6

- Dập nút nhôm, dán nhãn.

*k. Kiểm tra sinh phẩm bằng kỹ thuật MAC-ELISA để đóng gói*



- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu thực hành MAC-ELISA
- Pha dung dịch rửa PBS-T: Lấy 10 mL dung dịch PBS-T đặc 25 lần pha với nước cất trung tính vừa đủ 250 mL để rửa bản nhựa.
- Pha chứng âm, chứng dương và mẫu xét nghiệm
- + Pha loãng chứng âm và chứng dương 1:100.
  - Cho 1 mL dung dịch pha loãng vào mỗi lọ chứng dương và chứng âm.
  - Lắc đều, giữ ở (2-8) °C hoặc trên khay đá lạnh.
- +Pha loãng mẫu xét nghiệm (nếu có mẫu xét nghiệm):
- +Huyết thanh (HT) bệnh nhân pha loãng với tỷ lệ 1/100:
  - 10  $\mu$ LHT + 990  $\mu$ Ldung dịch pha loãng
- +Dịch não tủy (DNT) bệnh nhân pha loãng với tỷ lệ 1/10:
  - 100  $\mu$ LDNT + 900  $\mu$ Ldung dịch pha loãng
- Cho mẫu vào thanh nhựa sau khi lắp thanh nhựa vào giá đỡ màu trắng.
- +Cho mẫu vào mỗi giếng 100  $\mu$ L. Các mẫu chứng dương, chứng âm, dung dịch pha loãng (chứng blank) phải được lắp lại trên 2 giếng để kiểm soát chất lượng kỹ thuật thực hiện. Đối với mẫu xét nghiệm có thể làm xét nghiệm trên 1 giếng hoặc làm lắp lại trên 2 giếng cho theo sơ đồ.
- +Ủ thanh nhựa sau khi cho mẫu ở nhiệt độ phòng 1 giờ.
- +Rửa thanh nhựa: Có thể tiến hành rửa bằng máy rửa tự động hoặc bằng tay.
- +Loại bỏ phần mẫu có trong các giếng vào một bình chứa chất thải.
- +Rửa thanh nhựa bằng dung dịch PBS-T: Cho dung dịch rửa (PBS-T) vào đầy các giếng ( $\geq 300$   $\mu$ L) để khoảng 1 giây, đổ dung dịch rửa.
- +Làm nhắc lại 5 lần.
- Cho kháng nguyên
- +Pha loãng kháng nguyên: Cho 1 mL dung dịch pha loãng vào lọ kháng nguyên đông khô.
  - +Lắc nhẹ cho đồng nhất, giữ lạnh trên khay đá.
  - +Cho 50  $\mu$ L kháng nguyên đã pha loãng vào mỗi giếng.
  - +Lưu ý: Có thể ủ nhiệt độ phòng trong 1 giờ hoặc ủ ở 4 °C nếu trên 2 giờ và dưới 24 giờ.
  - +Rửa thanh nhựa bằng dung dịch PBS-T: Cho dung dịch rửa vào đầy các giếng ( $\geq 300$   $\mu$ l) để khoảng 1 giây, đổ dung dịch rửa.
  - +Làm nhắc lại 5 lần.
- Cho cộng hợp
  - +Cho 1 mL dung dịch pha loãng vào lọ cộng hợp. Lắc đều, giữ lạnh trên khay đá.
  - +Cho 50  $\mu$ L cộng hợp đã pha loãng vào các giếng.

- +Ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ.
- +Rửa thanh nhựa bằng dung dịch PBS-T: Cho dung dịch rửa (PBS-T) vào đầy các giếng ( $\geq 300 \mu\text{L}$ ) để khoảng 1 giây, đổ dung dịch rửa.
- +Làm nhắc lại 9 lần (bước rửa sau khi cho ủ cộng hợp phải lặp lại ít nhất 9 lần).
- +Cho cơ chất
- +Pha dung dịch cơ chất để ở nhiệt độ phòng: Chuẩn bị trước khi cho vào phản ứng. Cho 1mL dung dịch pha cơ chất vào 1mL dung dịch TMB lắc kỹ (**tránh ánh sáng**).
- +Cho vào mỗi giếng 100  $\mu\text{L}$  dung dịch cơ chất. Ủ ở nhiệt độ phòng, **tránh ánh sáng**.
- +Sau 5 phút kiểm tra, nếu thấy có sự chuyển màu rõ ở các giếng mẫu chứng dương sang màu xanh: (1) Trước khi có sự thay đổi màu ở các giếng mẫu chứng âm cần dừng phản ứng ngay; (2) Hoặc sau 7-10 phút kiểm tra sự chuyển màu của các giếng mẫu chứng dương và mẫu chứng âm để dừng phản ứng.
  - Dừng phản ứng:
  - +Bằng cách cho vào mỗi giếng 100  $\mu\text{L}$  dung dịch  $\text{H}_2\text{SO}_4.4\text{N}$ , màu xanh chuyển sang màu vàng.
  - Đọc kết quả bằng máy đọc ELISA bằng bước sóng kép 450 nm/620 nm, phân tích kết quả đạt. Đánh giá rủi ro trong quá trình thực hiện.
  - Đóng gói 5 thành phần dung dịch của bộ sinh phẩm để bảo quản ở 2-8 °C; Đóng gói 5 thành phần sinh phẩm để bảo quản ở -20 °C (nếu có xét nghiệm kết luận về kết quả theo như hướng dẫn của bộ sinh phẩm).
  - +Bảo quản: Thành phần dung dịch sau khi đóng gói được bảo quản ở 2-8 °C; Thành phần dung dịch sau khi đóng gói được bảo quản ở -20 °C.
  - +Hạn sử dụng: Thành phần bộ sinh phẩm có hạn sử dụng 02 năm kể từ ngày sản xuất; Bộ sinh phẩm có hạn sử dụng 18 tháng kể từ ngày đóng gói.
  - Hoàn thiện hồ sơ gồm các Biểu mẫu kiểm định, đóng gói sinh phẩm. Biểu mẫu đánh giá rủi ro quy trình sản xuất. Được đánh giá trước và sau mỗi lần đóng gói sản phẩm sản xuất kèm theo biểu mẫu.

#### 4.1.5. Kiểm tra tiêu chuẩn chất lượng

- Các thành phần của bộ sinh phẩm đã được đóng gói theo đơn vị là bộ sinh phẩm; Kiểm tra chất lượng bộ sinh phẩm bằng kỹ thuật MAC-ELISA theo tiêu chuẩn chất lượng của bộ sinh phẩm đã công bố.
- Đánh giá kết quả:
- Giá trị ngưỡng và các điều kiện của phản ứng theo chuẩn.
- Đánh giá độ nhạy độ, đặc hiệu của bộ sinh phẩm
- Đạt chuyển xuống bước 4.1.5, không đạt quay lại bước 4.1.3



4.1.6. Phân tích kết quả kiểm tra chất lượng sinh phẩm, hoàn thiện CoA của lô thành phẩm.

- Đánh số lô sản xuất:

- Lưu sinh phẩm, mỗi lô lấy ngẫu nhiên 03 bộ sinh phẩm (do đại diện QLKT&QLCL thực hiện); Mẫu lưu được bảo quản cho đến khi hết hạn sử dụng.

- Dán nhãn lưu

4.1.7. Hoàn thiện hồ sơ lô và xuất xưởng thành phẩm.

4.1.8. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm

- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.

- Tuân thủ các nguyên tắc khử nhiễm và xử lý chất thải phòng xét nghiệm theo Sổ tay An toàn của đơn vị.

4.1.9. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1.	Kế hoạch sản xuất sinh phẩm
2.	Giấy chứng nhận phân tích
3.	Biểu mẫu đánh giá rủi ro quá trình sản xuất
4.	Hồ sơ lô
5.	Phiếu theo dõi khám sức khỏe định kỳ
6.	Danh sách đào tạo nhân viên đủ điều kiện sản xuất
7.	Biểu mẫu theo dõi nhiệt độ thiết bị
8.	Biểu mẫu theo dõi điều kiện môi trường
9.	Phiếu thực hành MAC-ELISA

4.1.10. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 03 năm.

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm bao gồm:

- Bệnh phẩm: Số lượng bệnh phẩm ít, lấy bệnh phẩm không đúng cách, điều kiện bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm không bảo đảm....

- Phân tích kết quả: Sai số trong nhập liệu, nhầm lẫn hoặc thiếu thông tin trong báo



cáo của đơn vị tham gia, ....

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

- Điều kiện nhân sự, thiết bị và môi trường của phòng sản xuất: Đáp ứng yêu cầu của quản lý chất lượng phòng xét nghiệm.

- Hồ sơ lô: Điền đầy đủ thông tin theo biểu mẫu Hồ sơ lô, kèm theo bản tiêu chuẩn cơ sở thành phẩm, giấy hướng dẫn sử dụng bộ sinh phẩm.

- Khi thực hiện xét nghiệm tuân thủ đúng theo quy định kiểm soát chất lượng của kỹ thuật xét nghiệm đó.

- Các tủ lạnh, tủ lạnh âm phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.

- Các trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ và trong thời hạn hiệu chuẩn.

- Điều kiện môi trường của PTN phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.

- Kiểm tra kết quả đánh giá lô sản xuất theo yêu cầu kỹ thuật của TCCS đã công bố.

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm MAC-ELISA chẩn đoán Sốt xuất huyết dengue. Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

- Crowther J. R (1995). ELISA theory and practice, Humana Press.

- Akira Igarashi (2000). Technical Manual of Arbovirus study: 14-16.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 304:  
BỘ SINH PHẨM MAC-ELISA  
CHẨN ĐOÁN VIÊM NÃO NHẬT BẢN (IgM)**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này mô tả các hoạt động của quá trình quản lý, điều phối, sản xuất bộ sinh phẩm MAC-ELISA chẩn đoán viêm não Nhật Bản (IgM).

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

- **Tiêu chuẩn cơ sở:** là tiêu chuẩn sản phẩm, dịch vụ, quá trình, môi trường do người đứng đầu Cơ sở xây dựng và công bố để áp dụng trong các hoạt động của cơ sở.

- **Rủi ro:** Là khả năng xảy ra sự cố do một nguyên nhân với tần suất có thể gây ra mức độ ảnh hưởng tới chất lượng sản phẩm và an toàn cho người sản xuất.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- PTN: Phòng thí nghiệm

- MAC-ELISA: IgM Antibody Capture ELISA (Kỹ thuật miễn dịch gắn enzyme tóm bắt kháng thể IgM).

- VNNB: Viêm não Nhật Bản

- QLKT: Quản lý kỹ thuật

- QLCL: Quản lý chất lượng

- HDSD: Hướng dẫn sử dụng

- Sổ tay An toàn Phòng thí nghiệm: STAT

### **1.3. Nguyên lý**

Không áp dụng

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Nhân lực trực tiếp: 02 nhân sự thực hiện kỹ thuật có trình độ đại học trở lên khối ngành khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương hoặc có trình độ phù hợp, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Người lập kế hoạch, phê duyệt kết quả: 01 nhân sự có trình độ đại học trở lên, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Tiết trùng, khử nhiễm: trình độ 12/12 trở lên, được đào tạo về quy trình chuyên môn.

## 2.2. Vật tư

### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Chủng giống: Vi rút viêm não Nhật Bản chủng Nakayama.
- Chuột Swiss trắng 1- 3 ngày tuổi.
- Dung dịch PBS (-)
- Protaminsulfate 1%
- Formalin 10%
- Mẫu huyết thanh dương tính từ bệnh nhân viêm não Nhật Bản
- Mẫu huyết thanh âm tính từ người lành
- Kháng thể IgG kháng IgM người đặc hiệu chuỗi  $\mu$ .
- Dung dịch phủ bản, pH 9,6
- Dung dịch BSA 1%
- Kháng thể đơn dòng kháng Flavi đặc hiệu với vi rút VNNB
- Enzym HRPO.
- NaIO<sub>4</sub> 0,1M.
- NaBH<sub>4</sub> (4mg/mL)
- 1 mM Sodium acetate pH 4,4
- 10 mM Sodium carbonate pH 9,5
- Albumin bò.
- Dung dịch đỏ phenol 0,2%

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Hệ thống chai và dây hút não chuột.
- Bơm kim tiêm 1 mL.
- Ống đong, chai 100 mL, 500 mL, 1000 mL.
- Quần áo bảo hộ.
- Chai thủy tinh trung tính loại 1 L, 2 L, 5 L
- Lọ thủy tinh 3 mL/4 mL, nút cao su, nắp nhôm đường kính 13 mm, đập nút.
- Băng dính, nhãn.
- Đầu côn (típ) có lọc 0.5, 10, 20, 200 và 1000  $\mu$ L.
- Đầu côn các loại.
- Micropipet đơn kênh các loại
- Micropipet đa kênh 50-300  $\mu$ L.
- Pipet dispenser (pipet chia mẫu), đầu tip tương ứng 1 mL, 5 mL.
- khay đá (icepack).



- Thanh nhựa 16 giếng (16F)
- Màng thấm tích.
- Ống đong, chai thủy tinh các loại.
- Lọ thủy tinh 2 mL-3 mL, nút cao su đường kính 13 mm, nắp nhôm đường kính 13mm, dập nút.
- Nút cao su, nắp nhôm đường kính 20 mm.
- Dụng cụ dập nút đường kính 20 mm.
- Túi zip, túi ni-lon để đóng gói sinh phẩm
- Côn 70%
- Bút viết ống nghiệm
- Phan, kéo
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

### 2.3. Thiết bị

- Máy nghiền nhỏ
- Bơm chân không
- Máy ly tâm
- Máy khuấy từ
- Máy ủ nhiệt.
- Tủ lạnh (2-8) °C
- Tủ lạnh âm sâu -70 °C
- Tủ lạnh âm -20 °C
- Tủ an toàn sinh học
- Máy đo pH
- Cân điện tử 2-6 số
- Hệ thống ELISA (máy đọc phiến, rửa phiến, ủ phiến ELISA).

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm

Không áp dụng

### 2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Không áp dụng

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Thời gian từ khi lập kế hoạch đến khi xuất xưởng thành phẩm: 480 giờ x 2 người

## 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Sản xuất, đánh giá tại phòng xét nghiệm.

## 3. AN TOÀN

Tuân thủ nguyên tắc thực hành an toàn sinh học cấp II.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước tiến hành

#### 4.1.1. Công bố tiêu chuẩn cơ sở

- Ban hành tiêu chuẩn cơ sở để công bố đối với sản phẩm theo quy định chung cho một sản phẩm được thương mại.

#### 4.1.2. Lập kế hoạch sản xuất sinh phẩm

- Quản lý kỹ thuật theo kế hoạch định kỳ sản xuất 01 lần/năm, hoặc theo đơn đặt hàng, bản lập kế hoạch sản xuất sinh phẩm, xin phê duyệt của lãnh đạo phụ trách.

#### 4.1.3. Phê duyệt kế hoạch

- Nếu duyệt chuyển kế hoạch sản xuất xuống bộ phận sản xuất để tiến hành sản xuất lô sinh phẩm, nếu không duyệt quay lại bước 4.1.1.

#### 4.1.4. Sản xuất từng thành phần của bộ sinh phẩm

##### a. Sản xuất thanh nhựa gắn kháng thể kháng IgM người

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hoá chất, sinh phẩm để sản xuất thanh nhựa gắn kháng thể kháng IgM người.

- Chuẩn độ hiệu giá kháng thể kháng IgM người. Kiểm tra sinh phẩm bằng kỹ thuật MAC-ELISA.

- Xác định hiệu giá thích hợp để gắn kháng thể kháng IgM người vào thanh nhựa bằng kỹ thuật MAC-ELISA.

- Pha kháng thể kháng IgM người trong dung dịch phù bản pH ở nhiệt độ và thời gian phù hợp để kháng thể đồng nhất trong dung dịch phù bản. Gắn kháng thể lên thanh nhựa, cho 100 µL/giếng để ở nhiệt độ và thời gian phù hợp.

- Lắp chỗ trống trên bề mặt giếng bằng PBS (-) có 1% BSA; để nhiệt độ nhiệt độ và thời gian phù hợp

- Rửa thanh nhựa bằng PBS (-).

- Kiểm tra thanh nhựa bằng kỹ thuật MAC-ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật.

- Đóng gói trong túi giấy bạc, dán nhãn.

- Bảo quản ở nhiệt độ thích hợp

##### b. Sản xuất cộng hợp

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu Sản xuất cộng hợp kháng vi rút flavivirus

- Dung dịch A: Hoạt hoá kháng thể kháng flavivirus bằng NaBH<sub>4</sub>; Thẩm tích IgG trong dung dịch 10 mM sodium carbonat pH phù hợp

- Dung dịch B: Hoạt hóa enzyme: 5mg HRPO pha trong 1mL nước cất cho 0,25 mL dung dịch  $\text{NaIO}_4$  0,1M quay điện. Sau đó thẩm tích trong dung dịch 1mM sodium acetate pH phù hợp.

- Hộn dung dịch A và B quay điện từ ở phòng thí nghiệm trong 2 giờ. Cho 0,1 mL  $\text{NaIO}_4$  0,1M và quay điện từ

- Tủa kháng thể gắn cộng hợp, loại bỏ enzyme thừa.

- Làm đồng nhất cộng hợp trong PBS (-), thẩm tích trong PBS (-), thay dung dịch thẩm tích 2 lần.

- Thu cộng hợp, thêm Glycerin.

- Pha loãng, xác định hiệu giá cộng hợp bằng kỹ thuật MAC-ELISA

- Chia cộng hợp ra lọ dưới dạng đặc 100 lần cho từng bộ sinh phẩm trên dây truyền lạnh.

- Kiểm tra các tiêu chí kỹ thuật của cộng hợp sau khi chia lọ bằng kỹ thuật MAC-ELISA.

- Dập nút nhôm, dán nhãn, bảo quản

#### c. Sản xuất kháng nguyên Viêm não Nhật Bản

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và biểu mẫu cho Sản xuất kháng nguyên VNNB.

- Tiêm hỗn dịch vi rút VNNB vào não chuột ở 1–3 ngày tuổi giống Swiss (chúng từ Viện BIKEN, Kanonji Nhật).

- Sau 3 ngày chuột ốm liệt, gặt não chuột bằng máy hút chân không.

- Nghiền đồng nhất não chuột nhiễm vi rút 20% trong dung dịch Borat pH = 9 bằng máy nghiền. Ly tâm, loại bỏ cặn.

- Tủa nước nổi với protaminsulfate quay điện từ ở 4 °C /qua đêm không quá 24 giờ.

- Ly tâm và thu hồi nước nổi.

- Bất hoạt kháng nguyên vi rút bằng Formalin để 4 °C /1 giờ.

- Chuẩn độ hiệu giá kháng nguyên để chọn hiệu giá sử dụng: lấy 200  $\mu\text{L}$  kháng nguyên + 200  $\mu\text{L}$  dung dịch pha loãng. Pha loãng bậc hai bằng dung dịch pha loãng và thực hiện kỹ thuật MAC – ELISA.

- Chia vào các lọ nhỏ, đông băng để đông khô.

- Kiểm tra hiệu giá kháng nguyên sau khi chia lọ và đông khô bằng kỹ thuật MAC-ELISA về các tiêu chuẩn kỹ thuật theo yêu cầu.

- Dập nút nhôm, dán nhãn.

#### d. Sản xuất chứng dương Viêm não Nhật Bản

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu Sản xuất chứng dương viêm não Nhật Bản

- Chọn mẫu huyết thanh bệnh nhân VNNB (đã được kiểm tra HIV, HBV âm tính)



dựa trên kết quả xét nghiệm bằng kỹ thuật MAC-ELISA, đủ tiêu chuẩn để làm mẫu chứng dương, hỗn lại.

- Bất hoạt ở 56 °C /30 phút.
- Chia chứng dương ra lọ dưới dạng đặc cho từng bộ sinh phẩm.
- Kiểm tra mẫu chứng dương bằng kỹ thuật MAC-ELISA
- Dập nút, dán nhãn, bảo quản

e. *Sản xuất chứng âm*

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và biểu mẫu sản xuất huyết thanh chứng âm

- Mẫu huyết thanh âm tính với vi rút viêm não Nhật Bản, vi rút dengue và các tác nhân lây truyền qua đường máu.

- Kiểm tra mẫu chứng âm bằng kỹ thuật MAC-ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật,
- Chia lọ huyết thanh chứng âm: 10 µL/ lọ.

- Kiểm tra mẫu huyết thanh chứng âm sau khi chia lọ bằng kỹ thuật MAC-ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật

- Dập nút nhôm, dán nhãn.

f. *Sản xuất dung dịch pha loãng*

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu Sản xuất dung dịch pha loãng

- Pha dung dịch PBS (-) cho đỏ phenol
- Sấy vô trùng.

- Lấy mẫu dung dịch pha loãng kiểm tra bằng kỹ thuật MAC-ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật

- Chia lọ 15 mL/ lọ, dung dịch pha loãng có màu đỏ nhạt, trong suốt, đập nút cao su.

- Kiểm tra dung dịch pha loãng sau khi chia lọ bằng kỹ thuật MAC-ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật

- Dập nút nhôm, dán nhãn.

g. *Sản xuất dung dịch PBS – T (x25)*

- Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu Sản xuất dung dịch PBS – T (x 25)

- Pha dung dịch PBS (-) x 25
- Sấy vô trùng, để dung dịch nguội ở nhiệt độ phòng.

- Pha PBS-Tx25 bằng cách cho TWEEN 20 theo tỷ lệ 5‰. Để TWEEN 20 làm đồng nhất trong dung dịch PBS (-) đặc 25 lần ít nhất là sau 24h.

- Lấy mẫu PBS – T (x 25) kiểm tra bằng kỹ thuật MAC – ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật

- Chia lọ 10 mL/lọ, đậy nút cao su; PBS-T (x 25) trong không màu, lắc có bọt.
- Kiểm tra PBS – T (x 25) sau khi đã chia lọ bằng kỹ thuật MAC–ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật,
- Dập nút nhôm, dán nhãn.
- h. *Sản xuất dung dịch cơ chất TMB*
  - Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu sản xuất dung dịch cơ chất TMB
  - Tính dung dịch cơ chất TMB cần sử dụng để ra thành phẩm.
  - Lấy mẫu cơ chất TMB kiểm tra bằng kỹ thuật MAC – ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật
  - Chia ra lọ 1 mL/ lọ, cơ chất TMB trong suốt, không màu.
  - Kiểm tra cơ chất TMB đã chia lọ bằng kỹ thuật MAC–ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật khi kết hợp cùng với 1mL dung dịch đệm pha cơ chất.
  - Dập nút nhôm, dán nhãn.
- i. *Sản xuất dung dịch đệm pha cơ chất*
  - Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu sản xuất dung dịch đệm pha cơ chất
  - Kiểm tra cảm quan dung dịch đệm pha cơ chất.
  - Lấy mẫu đệm pha cơ chất kiểm tra bằng kỹ thuật MAC–ELISA về các tiêu chuẩn kỹ thuật theo yêu cầu.
  - Chia ra lọ 1 mL/ lọ, đệm pha cơ chất trong suốt, không màu.
  - Kiểm tra đệm pha cơ chất đã chia lọ bằng kỹ thuật MAC – ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật.
  - Dập nút nhôm, dán nhãn.
- j. *Sản xuất dung dịch dừng phản ứng*
  - Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu sản xuất dung dịch dừng phản ứng
  - Pha dung dịch dừng phản ứng H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4N
  - Lấy mẫu dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4N kiểm tra bằng kỹ thuật MAC–ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật
  - Chia ra lọ 2 mL/ lọ, đậy nút cao su, dung dịch dừng phản không màu.
  - Kiểm tra dung dịch dừng phản ứng H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4N đã chia ra lọ bằng kỹ thuật MAC–ELISA theo các tiêu chuẩn kỹ thuật, đạt chuyển xuống bước 4.1.6
  - Dập nút nhôm, dán nhãn.
- k. *Kiểm tra sinh phẩm bằng kỹ thuật MAC-ELISA để đóng gói*
  - Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị, hóa chất, sinh phẩm và phiếu thực hành MAC-ELISA

- Pha dung dịch rửa PBS-T: Lấy 10 mL dung dịch PBS-T đặc 25 lần pha với nước cất trung tính vừa đủ 250 mL để rửa bản nhựa.

- Pha chứng âm, chứng dương và mẫu xét nghiệm

+ Pha loãng chứng âm và chứng dương 1:100.

- Cho 1mL dung dịch pha loãng vào mỗi lọ chứng dương và chứng âm.

- Lắc đều, giữ ở (2-8) °C hoặc trên khay đá lạnh.

+Pha loãng mẫu xét nghiệm (nếu có mẫu xét nghiệm):

+Huyết thanh (HT) bệnh nhân pha loãng với tỷ lệ 1/100:

10  $\mu$ LHT + 990  $\mu$ Ldung dịch pha loãng

+Dịch não tuỷ (DNT) bệnh nhân pha loãng với tỷ lệ 1/10:

100  $\mu$ LDNT + 900  $\mu$ Ldung dịch pha loãng

- Cho mẫu vào thanh nhựa sau khi lắp thanh nhựa vào giá đỡ màu trắng.

+Cho mẫu vào mỗi giếng 100  $\mu$ L. Các mẫu chứng dương, chứng âm, dung dịch pha loãng (chứng blank) phải được lặp lại trên 2 giếng để kiểm soát chất lượng kỹ thuật thực hiện. Đối với mẫu xét nghiệm có thể làm xét nghiệm trên 1 giếng hoặc làm lặp lại trên 2 giếng cho theo sơ đồ mẫu.

+Ủ thanh nhựa sau khi cho mẫu ở nhiệt độ phòng 1 giờ.

+Rửa thanh nhựa: Có thể tiến hành rửa bằng máy rửa tự động hoặc bằng tay.

+Loại bỏ phần mẫu có trong các giếng vào một bình chứa chất thải.

+Rửa thanh nhựa bằng dung dịch PBS-T: Cho dung dịch rửa (PBS-T) vào đầy các giếng ( $\geq 300$   $\mu$ L) để khoảng 1 giây, đổ dung dịch rửa.

+Làm nhắc lại 5 lần.

- Cho kháng nguyên

+Pha loãng kháng nguyên: Cho 1 mL dung dịch pha loãng vào lọ kháng nguyên đông khô.

+Lắc nhẹ cho đồng nhất, giữ lạnh trên khay đá.

+Cho 50 $\mu$ l kháng nguyên đã pha loãng vào mỗi giếng.

+Lưu ý: Có thể ủ nhiệt độ phòng trong 1 giờ hoặc ủ ở 4 °C nếu trên 2 giờ và dưới 24 giờ.

+Rửa thanh nhựa bằng dung dịch PBS-T: Cho dung dịch rửa vào đầy các giếng ( $\geq 300$   $\mu$ L) để khoảng 1 giây, đổ dung dịch rửa.

+Làm nhắc lại 5 lần.

- Cho cộng hợp

+Cho 1 mL dung dịch pha loãng vào lọ cộng hợp. Lắc đều, giữ lạnh trên khay đá.

+Cho 50  $\mu$ L cộng hợp đã pha loãng vào các giếng.

+Ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ.



+Rửa thanh nhựa bằng dung dịch PBS-T: Cho dung dịch rửa (PBS-T) vào đáy các giếng ( $\geq 300 \mu\text{L}$ ) để khoảng 1 giây, đổ dung dịch rửa.

+Làm nhắc lại 9 lần (bước rửa sau khi cho ủ cộng hợp phải lặp lại ít nhất 9 lần).

- Cho cơ chất

+Pha dung dịch cơ chất để ở nhiệt độ phòng: Chuẩn bị trước khi cho vào phản ứng. Cho 1mL dung dịch pha cơ chất vào 1mL dung dịch TMB lắc kỹ (**tránh ánh sáng**).

+Cho vào mỗi giếng 100  $\mu\text{L}$  dung dịch cơ chất. Ủ ở nhiệt độ phòng, **tránh ánh sáng**.

+Sau 5 phút kiểm tra, nếu thấy có sự chuyển màu rõ ở các giếng mẫu chứng dương sang màu xanh: (1) Trước khi có sự thay đổi màu ở các giếng mẫu chứng âm cần dừng phản ứng ngay; (2) Hoặc sau 7-10 phút kiểm tra sự chuyển màu của các giếng mẫu chứng dương và mẫu chứng âm để dừng phản ứng.

- Dừng phản ứng:

+Bằng cách cho vào mỗi giếng 100  $\mu\text{L}$  dung dịch  $\text{H}_2\text{SO}_4.4\text{N}$ , màu xanh chuyển sang màu vàng.

- Đọc kết quả bằng máy đọc ELISA bằng bước sóng kép 450 nm/620 nm, phân tích kết quả đạt. Đánh giá rủi ro trong quá trình thực hiện.

- Đóng gói 5 thành phần dung dịch của bộ sinh phẩm để bảo quản ở 2-8 °C; Đóng gói 5 thành phần sinh phẩm để bảo quản ở -20 °C (nếu có xét nghiệm kết luận về kết quả theo như hướng dẫn của bộ sinh phẩm).

+Bảo quản: Thành phần dung dịch sau khi đóng gói được bảo quản ở (2-8) °C; Thành phần dung dịch sau khi đóng gói được bảo quản ở -20 °C.

+Hạn sử dụng: Thành phần bộ sinh phẩm có hạn sử dụng 02 năm kể từ ngày sản xuất; Bộ sinh phẩm có hạn sử dụng 18 tháng kể từ ngày đóng gói.

+Hoàn thiện hồ sơ gồm các Biểu mẫu kiểm định, đóng gói sinh phẩm. Biểu mẫu đánh giá rủi ro quy trình sản xuất. Được đánh giá trước và sau mỗi lần đóng gói sản phẩm sản xuất kèm theo biểu mẫu.

#### 4.1.5. Kiểm tra tiêu chuẩn chất lượng

- Các thành phần của bộ sinh phẩm đã được đóng gói theo đơn vị là bộ sinh phẩm; Kiểm tra chất lượng bộ sinh phẩm bằng kỹ thuật MAC-ELISA theo tiêu chuẩn chất lượng của bộ sinh phẩm đã công bố.

- Đánh giá kết quả:

- Giá trị ngưỡng và các điều kiện của phản ứng theo chuẩn.

- Đánh giá độ nhạy độ, đặc hiệu của bộ sinh phẩm

- Đạt chuyển xuống bước 4.1.5, không đạt quay lại bước 4.1.3

#### 4.1.6. Phân tích kết quả kiểm tra chất lượng sinh phẩm, hoàn thiện CoA của lô thành phẩm.

- Đánh số lô sản xuất:

- Lưu sinh phẩm, mỗi lô lấy ngẫu nhiên 03 bộ sinh phẩm (do đại diện QLKT&QLCL thực hiện); Mẫu lưu được bảo quản cho đến khi hết hạn sử dụng.

- Dán nhãn lưu

4.1.7. Hoàn thiện hồ sơ lô và xuất xưởng thành phẩm.

4.1.8. Khử nhiễm và xử lý mẫu

- Khử nhiễm Khu vực làm việc và trang thiết bị sau xét nghiệm

- Xử lý rác thải: Thực hiện phân loại và xử lý chất thải lây nhiễm theo quy định.

- Tuân thủ các nguyên tắc khử nhiễm và xử lý chất thải phòng xét nghiệm theo Sổ tay An toàn của đơn vị.

4.1.9. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1.	Kế hoạch sản xuất sinh phẩm
2.	Giấy chứng nhận phân tích
3.	Biểu mẫu đánh giá rủi ro quá trình sản xuất
4.	Hồ sơ lô
5.	Phiếu theo dõi khám sức khỏe định kỳ
6.	Danh sách đào tạo nhân viên đủ điều kiện sản xuất
7.	Biểu mẫu theo dõi nhiệt độ thiết bị
8.	Biểu mẫu theo dõi điều kiện môi trường
9.	Phiếu thực hành MAC-ELISA

4.1.10. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm các biểu mẫu đã điền thông tin, dữ liệu gốc in từ máy, sơ đồ mẫu... ở dạng văn bản hoặc điện tử

- Thời gian lưu tối thiểu 03 năm.

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm bao gồm:

- Bệnh phẩm: Số lượng bệnh phẩm ít, lấy bệnh phẩm không đúng cách, điều kiện bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm không bảo đảm....

- Phân tích kết quả: Sai số trong nhập liệu, nhầm lẫn hoặc thiếu thông tin trong báo cáo của đơn vị tham gia, ....

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Điều kiện nhân sự, thiết bị và môi trường của phòng sản xuất: Đáp ứng yêu cầu

của quản lý chất lượng phòng xét nghiệm.

- Hồ sơ lô: Điền đầy đủ thông tin theo biểu mẫu Hồ sơ lô, kèm theo bản tiêu chuẩn cơ sở thành phẩm, giấy hướng dẫn sử dụng bộ sinh phẩm.

- Khi thực hiện xét nghiệm tuân thủ đúng theo quy định kiểm soát chất lượng của kỹ thuật xét nghiệm đó.

- Các tủ lạnh, tủ lạnh âm phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.

- Điều kiện môi trường của PTN phải được theo dõi nhiệt độ hàng ngày và trong giới hạn cho phép.

- Kiểm tra kết quả đánh giá lô sản xuất theo yêu cầu kỹ thuật của TCCS đã công bố.

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm MAC-ELISA chẩn đoán viêm não Nhật Bản. Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

- Crowther J. R (1995). ELISA theory and practice, Humana Press.

- Akira Igarashi (2000). Technical Manual of Arbovirus study: 14-16.





## Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 305:

### DIỆT LĂNG QUĂNG/ BỌ GÂY PHÒNG CHỐNG BỆNH DO MUỖI TRUYỀN

#### 1. ĐẠI CƯƠNG

##### 1.1. Mục đích

Quy trình này hướng dẫn/mô tả cách thực hiện hoạt động diệt lăng quăng/bọ gây phòng chống bệnh do muỗi truyền (Sốt xuất huyết Dengue, bệnh do vi rút Zika, Chikungunya, Sốt vàng) thường được áp dụng trong Chiến dịch diệt lăng quăng/bọ gây, kiểm soát véc tơ nơi xảy ra ổ dịch hoặc các hoạt động vãng gia tuyên truyền vận động hộ dân diệt lăng quăng/bọ gây phòng bệnh.

##### 1.2. Định nghĩa

- Đội diệt lăng quăng/bọ gây là nhóm gồm những người tình nguyện, có uy tín trong cộng đồng cư dân được địa phương đề xuất và Ủy ban Nhân dân cấp phường/xã/thị trấn ra quyết định thành lập, phân công, điều động.

- Đội này có thể được gọi bằng các tên như Đội/nhóm vãng gia, Đội xung kích, Đội xử lý dịch, Cộng tác viên,... tùy thuộc địa phương.

##### 1.3. Từ viết tắt

- BI: Breteau index (chỉ số Breteau)
- CDDLQ: Chiến dịch diệt lăng quăng/bọ gây
- CTV: Cộng tác viên
- HI: House index (chỉ số nhà có lăng quăng/bọ gây)
- LQ/BG: Lăng quăng/bọ gây
- NSX: Nhà sản xuất
- PCSXH: Phòng chống Sốt xuất huyết
- SXHD: Sốt xuất huyết Dengue
- TTKSBT: Trung tâm Kiểm soát bệnh tật
- TTYT: Trung tâm Y tế
- TYT: Trạm Y tế
- UBND: Ủy ban Nhân dân

##### 1.4. Nguyên lý

- Xác định được ổ LQ/BG nguồn là cơ sở cho việc lựa chọn biện pháp xử lý ổ LQ/BG phù hợp và nguồn lực cần để thực hiện nhiệm vụ.

- Ổ LQ/BG phải được dọn dẹp, xử lý sạch sau khi Đội diệt LQ/BG vãng gia tại cộng đồng.

## 2. CHUẨN BỊ

### 2.1. Người thực hiện

- Nhân lực trực tiếp:

+ Thành viên Đội diệt LQ/BG: biết đọc, biết viết (hoặc tương đương tối thiểu trình độ tiểu học), có đủ sức khỏe và tình nguyện tham gia Đội/nhóm. Số lượng thành viên Đội diệt LQ/BG từ 30-60 người/xã/phường/thị trấn tùy theo quy mô số hộ gia đình trên địa bàn.

+ Chuyên trách Trạm Y tế phường/xã/thị trấn: số lượng 01 người/Trạm Y tế, trình độ từ Trung cấp Y tế trở lên.

### 2.2. Vật tư

#### 2.2.1. Hóa chất/hoạt chất diệt LQ/BG

- Hóa chất/hoạt chất diệt LQ/BG phải được cấp số đăng ký lưu hành do cơ quan có thẩm quyền tại Việt Nam cấp và còn hiệu lực.

- Tất cả hóa chất/hoạt chất diệt LQ/BG phải được sử dụng theo đúng hướng dẫn của NSX ghi trên nhãn chai, lọ/bao bì sản phẩm hoặc trong tờ hướng dẫn sử dụng.

#### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Bia/túi sơ mi nhựa (khổ A4) đựng hồ sơ của cá nhân tham gia diệt LQ/BG

- Áo mưa cá nhân

- Đồng phục cho thành viên Đội/nhóm diệt LQ/BG (nếu có)

- Hóa chất/hoạt chất diệt LQ/BG được cấp phép lưu hành (nếu áp dụng).

- Đèn pin và pin hoặc Đèn pin sạc

- Bút bi xanh

- Bàn chải nhựa (loại thông dụng trên thị trường)

- Cá nhỏ (cá lia thia, cá bảy màu...)

- Xô/thùng nhựa đựng cá nhỏ

- Vợt/lưới cầm tay (dùng vớt/thả cá)

- Bao nylon (dùng che/đậy nắp lu, khạp, thùng...)

- Tấm lưới/vải mỏng để lọc/lọc nước sạch

- Phiếu ghi thông tin hoạt động diệt LQ/BG phòng chống bệnh do muỗi vằn truyền

- Phiếu khảo sát LQ/BG tại thực địa

- Phiếu tổng kết khảo sát LQ/BG tại thực địa

- Phiếu cam kết loại trừ LQ/BG trong và xung quanh nhà

- Tờ rơi/tờ bướm tuyên truyền PCSXH

- Áp phích tuyên truyền PCSXH (nếu có)

- Loa tay/loa di động truyền thông (nếu có)

- Băng rôn tuyên truyền PCSXH (nếu phù hợp).

### **2.3. Thiết bị**

- Tủ để dụng cụ và tài liệu truyền thông
- Máy vi tính
- Máy in laser đa năng (in, photo, scan)

### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm (nếu có)**

Không áp dụng.

### **2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm (nếu có)**

Không áp dụng.

### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Từ 2-5 ngày/1 đợt diệt LQ/BG (tùy thuộc số hộ dân trên địa bàn của nơi ra quân diệt LQ/BG).

### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Tại thực địa (hộ gia đình gồm trong và xung quanh nhà/nơi sinh sống, khu vực công cộng như công viên, bãi đất trống, nghĩa trang, bến/ga tàu/xe,... và các khu vực phù hợp khác).

## **3. AN TOÀN**

- Nếu có áp dụng biện pháp diệt LQ/BG bằng hóa chất/hoạt chất phải tuân thủ đúng hướng dẫn sử dụng của NSX được in trên hộp, chai, lọ/bao bì sản phẩm hoặc tờ hướng dẫn sử dụng sản phẩm nhằm đảm bảo hiệu quả, an toàn cho con người, môi trường xung quanh.

- Nếu thành viên Đội diệt LQ/BG là người của địa bàn khác đến tăng cường, cần có người địa phương hướng dẫn, giới thiệu khi vắng gia và/hoặc điều tra, tìm kiếm ổ LQ/BG.

- Khuyến khích Đội diệt LQ/BG nên tiêm ngừa bệnh Đại theo phác đồ trước phơi nhiễm.

## **4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **4.1. Các bước thực hiện**

#### **4.1.1. Hoạt động chuẩn bị**

- Xây dựng kế hoạch diệt LQ/BG và Kế hoạch kiểm tra, giám sát hoạt động diệt LQ/BG.

- Thành lập Đội diệt LQ/BG tham gia hoạt động diệt LQ/BG phòng, chống bệnh do muỗi truyền, với tiêu chuẩn ít nhất mỗi Đội gồm 2 thành viên, phụ trách 50 hộ gia đình mỗi ngày.

- Tập huấn cho tất cả thành viên Đội diệt LQ/BG về kiến thức cơ bản về bệnh do muỗi truyền, đặc điểm muỗi truyền bệnh, đặc điểm ổ LQ/BG của địa phương và cách xử lý phù hợp.

- Phân công địa bàn/khu vực cần triển khai hoạt động diệt LQ/BG cho các Đội.



- Cung cấp trang bị thiết bị, dụng cụ, vật tư hỗ trợ hoạt động của Đội diệt LQ/BG.

#### 4.1.2. Các bước thực hiện

*a. Bước 1: Di chuyển đến hộ gia đình trong khu vực được phân công:*

- Nếu chủ hộ/thành viên gia đình có mặt lúc vắng gia, thực hiện tiếp **Bước 2**.

- Nếu chủ hộ/thành viên gia đình vắng nhà tại thời điểm vắng gia, Đội diệt LQ/BG đánh dấu vào danh sách quản lý và chọn ngày khác vắng gia.

- Nếu chủ hộ/thành viên gia đình không cho vào nhà, Đội diệt LQ/BG thuyết phục và nếu vẫn không đồng ý, Đội diệt LQ/BG đánh dấu vào danh sách quản lý và báo cáo cho UBND, TYT để có biện pháp can thiệp phù hợp.

*b. Bước 2:*

Chào hỏi, giới thiệu với hộ dân về Đội diệt LQ/BG (tóm tắt nhiệm vụ, vai trò của Đội) và sau đó thành viên được phân công truyền thông sẽ cung cấp thông tin cơ bản về bệnh do muỗi vằn truyền và cách phòng, chống, kết hợp phát tờ rơi/ tờ bướm truyền thông (nếu có). Thời gian ước tính khoảng 2-3 phút/ hộ gia đình.

*c. Bước 3: Kiểm tra, xử lý các vật chứa nguy cơ*

- Tiến hành kiểm tra tình trạng vật chứa trong và ngoài nhà bằng đèn pin.

- Nếu phát hiện có vật chứa nguy cơ, thành viên Đội diệt LQ/BG tiến hành hướng dẫn hộ dân cách xử lý vật chứa. Đảm bảo loại trừ 100% vật chứa có LQ/BG và bảo vệ 100% vật chứa nguy cơ trước khi rời khỏi hộ gia đình. Thời gian kiểm tra, hướng dẫn xử lý vật chứa ước tính từ 10 - 15 phút/ hộ gia đình.

*d. Bước 4: Ghi chép thông tin vào biểu mẫu liên quan.*

*e. Bước 5: Triển khai cho đại diện hộ dân ký bảng cam kết loại trừ LQ/BG – nếu phù hợp. Thời gian ước tính khoảng 2-3 phút/ hộ gia đình.*

*f. Bước 6: Cảm ơn sự phối hợp và chào tạm biệt hộ gia đình (từ 2-3 phút/ hộ).*

*g. Bước 7: Di chuyển sang hộ kế tiếp cho đến hết số hộ được phân cho Đội diệt LQ/BG.*

#### **Lưu ý:**

- Tất cả các can thiệp xử lý diệt LQ/BG tại cộng đồng cần tuân thủ nguyên tắc:

+ Đội diệt LQ/BG ưu tiên tuyên truyền, hướng dẫn, làm thị phạm và kiểm tra thành viên hộ gia đình thực hiện diệt LQ/BG, đảm bảo nhà sạch lăng quăng khi Đội rời khỏi nhà.

+ Đội diệt LQ/BG trực tiếp thực hiện diệt LQ/BG trong những trường hợp hộ dân chỉ có người già, trẻ em không thể tự làm việc này; vườn không nhà trồng do chủ nhà đi khỏi địa phương; khu đất trống; công trình công cộng...

+ Quá trình xử lý diệt LQ/BG: Đội diệt LQ/BG cần chú ý cẩn thận tránh làm đổ, vỡ dụng cụ chứa nước của người dân/cộng đồng.

- Trường hợp cá nhân/hộ gia đình trong cộng đồng không hợp tác, dù đã được Đội diệt LQ/BG thuyết phục, cần được lập danh sách báo cáo về UBND xã/phường/thị trấn để có hướng xử lý tiếp theo.

## 4.2. Nhận định kết quả

- Chỉ số BI sau triển khai hoạt động diệt LQ/BG phải đạt ngưỡng an toàn ( $BI \leq 20$ ).
- Nếu quá trình kiểm tra, giám sát ghi nhận  $BI > 20$  cần tổ chức xử lý lại.

## 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

### 4.3.1. Trả kết quả

- Chỉ số BI là: Tổng số dụng cụ chứa nước có LQ/BG tính trên 100 nhà điều tra.  
Ví dụ: ghi nhận được 10 dụng cụ chứa nước có LQ/BG thu thập ở 50 hộ gia đình thì cách tính chỉ số BI là:  $(10 \times 100)/50 = 20$ .

- Diễn giải chỉ số BI:

- +  $BI \leq 20$ : được xem như an toàn và xử lý là đạt yêu cầu;
- +  $BI > 20$ : là xử lý chưa đạt, cần tổ chức xử lý LQ/BG tiếp tục.

### 4.3.2. Phụ lục/biểu mẫu

Không áp dụng.

### 4.3.3. Lưu trữ hồ sơ

Theo quy định hiện hành.

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện quy trình kỹ thuật

Không áp dụng.

### 5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu sau khi thực hiện diệt LQ/BG mà chỉ số  $BI > 20$  thì phải thực hiện lại hoạt động diệt LQ/BG.

### 5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu sau khi thực hiện diệt LQ/BG mà chỉ số  $BI > 20$  thì phải thực hiện lại hoạt động diệt LQ/BG.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Không áp dụng.

### 6.1. Nội kiểm chất lượng

Không áp dụng.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

Không áp dụng.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn giám sát và phòng, chống bệnh Sốt xuất huyết Dengue hiện hành của Bộ Y tế.

- Cẩm nang Phòng, chống bệnh Sốt xuất huyết Dengue tại cộng đồng (tài liệu dành cho cán bộ Y tế cơ sở), Bộ Y tế phát hành năm 2018 - ISBN 978-604-973-907-2.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 306:**

**HOÁ DỰ PHÒNG ĐỂ KIỂM SOÁT BỆNH DỊCH CỦA CÁC TUYẾN**

**1. ĐẠI CƯƠNG**

**1.1. Mục đích**

Quy trình này hướng dẫn cách thực hiện công việc cụ thể liên quan đến triển khai hóa dự phòng để kiểm soát bệnh dịch.

**1.2. Định nghĩa**

**1.2.1. Giải thích từ ngữ**

Triển khai sử dụng thuốc, hóa chất phòng ngừa để kiểm soát bệnh dịch là một trong các giải pháp giúp hạn chế dịch bệnh bùng phát lan rộng.

**1.2.2. Từ viết tắt**

Không áp dụng.

**1.3. Nguyên lý**

- Tuân thủ đúng theo hướng dẫn đã ban hành của Bộ Y tế, Sở Y tế, hoặc các cơ quan quản lý tại địa phương.

- Bám sát kế hoạch đã được phê duyệt bởi Bộ Y tế, Sở Y tế, hoặc các cơ quan quản lý tại địa phương.

**2. CHUẨN BỊ**

**2.1. Người thực hiện**

- Lập kế hoạch, báo cáo: Trình độ đại học trở lên khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.

- Phát thuốc: Trình độ thực hiện từ trung cấp trở lên, chuyên ngành y dược, điều dưỡng.

**2.2. Vật tư**

**2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

*a. Dụng cụ xét nghiệm*

Không áp dụng.

*b. Dụng cụ nội kiểm, ngoại kiểm, hóa chất chuẩn, tham chiếu*

Không áp dụng.

**2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Vật tư hướng dẫn người triển khai trực tiếp, vật tư đóng gói, ghi chép khi triển khai và báo cáo...

- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...



**2.3. Thiết bị**

Máy vi tính để thực hiện báo cáo sau triển khai hoạt động.

**2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm nếu có**

Không áp dụng.

**2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm nếu có**

Không áp dụng.

**2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Theo thời gian triển khai thực tế, tùy thuộc vào loại hoá dự phòng triển khai và quy mô triển khai.

**2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Tại thực địa.

**3. AN TOÀN**

Không áp dụng.

**4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH****4.1. Các bước thực hiện**

- Lập kế hoạch triển khai, trong đó có thông tin về địa điểm triển khai, dự kiến số lượng nhận hoá dự phòng, và danh sách cá nhân/hộ gia đình/trường học dự kiến nhận hoá dự phòng (nếu có).

- Liên hệ tổ dân phố/thôn/cộng tác viên y tế hỗ trợ, hướng dẫn đến địa điểm triển khai.

- Hợp phổ biến kế hoạch triển khai, hướng dẫn người thực hiện.

- Tiến hành triển khai hoá dự phòng theo kế hoạch, nêu rõ mục đích và hướng dẫn sử dụng với người dân, cách xử trí khi gặp các phản ứng bất lợi.

- Ghi chép danh sách cấp phát, ký nhận.

- Báo cáo kết quả thực hiện.

**4.2. Nhận định kết quả**

Tổng kết đánh giá kết quả thực hiện, phân tích khó khăn và thuận lợi.

**4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ****4.3.1. Trả kết quả**

Không áp dụng.

**4.3.2. Phụ lục/biểu mẫu**

Không áp dụng.

**4.3.3. Lưu trữ hồ sơ**

Theo quy định hiện hành.

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Không áp dụng.

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

### 6.1. Nội kiểm chất lượng

- Trưởng nhóm thực hiện kiểm tra ngẫu nhiên một số hộ gia đình hoặc cá nhân nhận hoá dự phòng về số lượng, mục đích, hướng dẫn sử dụng, cách xử trí khi gặp các phản ứng bất lợi mà họ đã được phổ biến để kiểm tra tính đúng của công việc hoá dự phòng đã triển khai.

### 6.2. Chương trình ngoại kiểm/so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

Không áp dụng.

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Luật số 03/2007/QH12 ngày 21/11/2007 của Quốc hội về Luật phòng, chống bệnh truyền nhiễm.



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 307**  
**TƯ VẤN, HỖ TRỢ KỸ THUẬT VỀ Y TẾ DỰ PHÒNG,**  
**Y TẾ CÔNG CỘNG**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

Quy trình này được xây dựng để hướng dẫn thực hiện hoạt động Tư vấn kỹ thuật tại chỗ cho các đơn vị có nhu cầu.

### **1.2. Định nghĩa**

#### **1.2.1. Giải thích từ ngữ**

- **Tư vấn:** Tư vấn là tiến trình trao đổi thông tin giữa cán bộ tư vấn và người/đơn vị được tư vấn, trong đó người tư vấn sử dụng kiến thức, kỹ năng nghề nghiệp của mình giúp người/đơn vị được tư vấn thấu hiểu hoàn cảnh của mình và tự giải quyết vấn đề của mình.

- **Tiến trình:** Tư vấn cần một khoảng thời gian tương đối dài, có thể không phải chỉ gặp gỡ 1 lần, mà có khi rất nhiều lần mới có kết quả rõ rệt. Tư vấn là tiến trình bởi nó là một hoạt động có mở đầu, có diễn biến và có kết thúc.

- **Thấu hiểu:** Tư vấn giúp người được tư vấn nhận ra thực trạng của đơn vị được tư vấn đang ở trong hoàn cảnh nào, có thể mạnh, điểm yếu, cơ hội và thách thức như thế nào để đạt được mục tiêu đề ra.

- **Tự giải quyết:** Tư vấn không quyết định thay. Trên cơ sở thấu hiểu hoàn cảnh của mình, đơn vị được tư vấn phải cân nhắc, lựa chọn biện pháp nào phù hợp nhất.

#### **1.2.2. Từ viết tắt**

- CĐT : Chi đạo tuyến
- YTCC : Y tế công cộng
- TTKSBTN : Trung tâm Kiểm soát bệnh truyền nhiễm
- BV : Bệnh viện
- YTDP : Y tế dự phòng
- HTKT : Hỗ trợ kỹ thuật

### **1.1. Nguyên lý**

- Không áp dụng

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Trình độ đại học trở lên thuộc khối ngành Khoa học sự sống, sức khỏe, hoặc tương đương; được đào tạo về quy trình chuyên môn.



**2.2. Vật tư****2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

Không áp dụng

**2.2.2. Vật tư tiêu hao**

Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

**2.3. Thiết bị**

Không áp dụng

**2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm**

Không áp dụng

**2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm**

Không áp dụng

**2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật**

Không áp dụng

**2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Tại cơ sở có nhu cầu.

**3. AN TOÀN**

Không áp dụng

**4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH****4.1. Các bước thực hiện****4.1.1. Lập kế hoạch triển khai hoạt động tư vấn kỹ thuật**

Đơn vị tư vấn là đơn vị xây dựng kế hoạch triển khai hoạt động tư vấn kỹ thuật. Kế hoạch triển khai này được xây dựng dựa vào các căn cứ sau:

+Kế hoạch định kỳ của đơn vị tư vấn: Là những kế hoạch theo tháng, quý, năm đã được đơn vị tư vấn xây dựng/tổng hợp một cách định kỳ trước đó.

+Hoạt động đột xuất (nếu chưa có trong kế hoạch định kỳ) dựa trên đề nghị của các đơn vị được hỗ trợ kỹ thuật.

+Xây dựng kế hoạch chi tiết cho hoạt động tư vấn kỹ thuật theo biểu mẫu BM01, bao gồm:

- Nội dung hoạt động: Liệt kê đầy đủ các nội dung trong hoạt động
  - Thời gian thực hiện: Xác định thời gian phù hợp cho đơn vị được kiểm tra/giám sát và nhóm triển khai
  - Nhân lực thực hiện: Xác định nhân lực tham gia kiểm tra/giám sát đáp ứng với yêu cầu của công việc. Cán bộ tham gia cần có trình độ và năng lực phù hợp với từng lĩnh vực được giao nhiệm vụ.
  - Nguồn kinh phí để thực hiện hoạt động.
- +Các nội dung tư vấn kỹ thuật bao gồm:

- Tư vấn về thiết kế và sắp xếp phòng xét nghiệm
- Tư vấn về triển khai kỹ thuật xét nghiệm
- Tư vấn về triển khai quản lý phòng xét nghiệm
- Tư vấn về triển khai hoạt động chỉ đạo tuyến
- Tư vấn về lập kế hoạch
- Tư vấn về phòng chống dịch
- Tư vấn về xây dựng đề tài, dự án nghiên cứu khoa học

#### 4.1.2. Phê duyệt kế hoạch

Lãnh đạo đơn vị tư vấn phê duyệt bản kế hoạch triển khai chi tiết.

+Nếu bản kế hoạch triển khai chi tiết đạt yêu cầu, các thực hiện hoạt động theo bước tiếp theo.

+Nếu bản kế hoạch triển khai chi tiết chưa đạt yêu cầu sẽ phải xây dựng lại

#### 4.1.3. Chuẩn bị các nội dung cần thiết

Trước khi triển khai hoạt động, nhóm triển khai cần chuẩn bị:

- Thu thập các tài liệu, hồ sơ phù hợp với nội dung tư vấn.
- Xác định nội dung tư vấn: dựa vào đề xuất của đơn vị và những phát hiện thông qua việc đánh giá nhanh tình hình đơn vị qua các tài liệu, hồ sơ đã được thu thập.

- Xác định hình thức tư vấn phù hợp, ví dụ:

+Tư vấn trực tiếp thông qua các buổi họp tư vấn

+Tư vấn gián tiếp: Nhóm tư vấn họp, thống nhất các nội dung cần tư vấn và gửi các nội dung này qua công văn, thư điện tử giữa đơn vị được tư vấn và nhóm tư vấn.

- Thông báo bằng văn bản (công văn) tới đơn vị được tư vấn kỹ thuật về kế hoạch thực hiện và các nội dung đơn vị cần chuẩn bị ít nhất 3 ngày làm việc trước khi triển khai hoạt động.

#### 4.1.4. Thực hiện tư vấn kỹ thuật

- Tổ chức hoạt động tư vấn kỹ thuật trực tiếp hoặc gián tiếp.

- Thực hiện các nội dung tư vấn kỹ thuật theo thực trạng và nhu cầu của đơn vị.

**Lưu ý:** Hoạt động tư vấn có thể kéo dài cho đến khi đơn vị được tư vấn tìm ra giải pháp để cải thiện vấn đề được tư vấn.

#### 4.1.5. Thống nhất các giải pháp

- Các giải pháp cần được thống nhất giữa nhóm triển khai (người tư vấn) và đơn vị được tư vấn.

- Nếu tư vấn kỹ thuật tại đơn vị, nhóm triển khai cần họp với lãnh đạo đơn vị để công bố kết quả hoạt động.

#### 4.1.6. Báo cáo hoạt động

Sau khi kết thúc hoạt động, nhóm triển khai cần hoàn thành báo cáo hoạt động và:

- +Lưu bản gốc tại đơn vị tư vấn.
- +Gửi bản sao đến đơn vị được hỗ trợ.
- +Gửi đến Lãnh đạo đơn vị tư vấn và các khoa/phòng có liên quan để thông báo qua thư điện tử

- Báo cáo hoạt động tư vấn kỹ thuật được thực hiện theo biểu mẫu PL01.

#### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

#### 4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả

Không áp dụng

##### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Biểu mẫu lập kế hoạch hoạt động tư vấn kỹ thuật
2	Biểu mẫu báo cáo hoạt động tư vấn kỹ thuật

##### 4.3.3. Hồ sơ

- Lưu hồ sơ toàn bộ quá trình thực hiện ở dạng văn bản hoặc điện tử.
- Thời gian lưu tối thiểu 05 năm

### 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Không áp dụng

### 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Không áp dụng

### 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế, Quyết định 558/QĐ-BYT ngày 23/01/2018 về việc ban hành quy chế, tổ chức và hoạt động của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

- Chính phủ, Nghị định số 103/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 7 năm 2016 quy định đảm bảo an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm.

- Thông tư 51/2014/TT-BYT ngày 29/12/2014 quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Trung tâm y tế dự phòng tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương.

- Thông tư 26/2017/TT-BYT ngày 26/6/2017 quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Trung tâm kiểm soát bệnh tật tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương.

- Các tài liệu hướng dẫn về phòng chống dịch, kỹ thuật xét nghiệm, lập kế hoạch...



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 308:  
TƯ VẤN VÀ KHÁM SÀNG LỌC TRƯỚC TIÊM CHỦNG**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

- Quy trình này mô tả/hướng dẫn thực hiện đúng các trình tự thao tác tư vấn và khám sàng lọc trước Máy in laser đa năng (in, photo, scan) c tiêm chủng.
- Quyết định việc chỉ định tiêm chủng đúng vắc xin, đúng đối tượng.

### **1.2. Định nghĩa**

#### 1.2.1. Giải thích từ ngữ

- **Khách hàng:** người có nhu cầu tiêm chủng/người được tiêm chủng
- **Người thân của khách hàng:** Là ông/bà/cha/mẹ hoặc người giám hộ hợp pháp đưa trẻ đi tiêm chủng
- **Sai sót liên quan đến thực hành tiêm chủng:** là sai sót gây ra do việc sử dụng vắc xin sai và gây ra các biến cố bất lợi tới đối tượng tiêm chủng. Đó có thể là những sai sót liên quan đến thực hành chuyên môn, vật tư tiêm chủng, quá trình bảo quản, pha hồi chính, tiêm chủng và theo dõi biến cố bất lợi sau tiêm chủng.

#### 1.2.2. Từ viết tắt

- BKT: Bơm kim tiêm
- KTV: Kỹ thuật viên
- PUSTC: phản ứng sau tiêm chủng
- VPP: Văn phòng phẩm.

### **1.3. Nguyên lý**

Khám sàng lọc, tư vấn cho đối tượng tiêm chủng. Trường hợp đối tượng tiêm chủng là trẻ em thì việc tư vấn thực hiện với cha, mẹ hoặc người giám hộ của trẻ.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Y sĩ trình độ từ trung cấp trở lên/Bác sĩ trình độ từ đại học trở lên: 01 người
- Nhân viên tiếp nhận trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người

### **2.2. Vật tư**

#### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Nước tẩy Javen tẩy quần áo
- Cồn 70 %/dung dịch khử trùng nhanh
- Viên nén dùng cho khử nhiễm
- Nước sát khuẩn tay

- Bột giặt
- Chloramin B/dung dịch lau sàn phòng khám

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Cây đũa lưỡi, khẩu trang, găng tay, nước sát khuẩn...
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

### 2.3. Thiết bị

- Ống nghe, nhiệt kế, máy đo huyết áp, dụng cụ cân đo trẻ em, đèn soi ...
- Máy tính, máy in, phần mềm lưu trữ thông tin khách hàng,...

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng được tư vấn và khám sàng lọc

Hướng dẫn khách hàng/thân nhân của khách hàng lấy số thứ tự, ghi thông tin đầy đủ vào Phiếu/Sổ tiêm chủng, Bảng kiểm trước tiêm chủng (nếu cần) và đợi đến lượt khám.

### 2.5. Phiếu/sổ tiêm chủng

Sổ tiêm chủng với đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên đối tượng tiêm chủng, giới tính, ngày tháng năm sinh, địa chỉ, điện thoại.

### 2.6. Thời gian thực hiện tư vấn và khám sàng lọc

4-5 phút/1 đối tượng

### 2.7. Địa điểm thực hiện tư vấn và khám sàng lọc

Phòng khám sàng lọc trước tiêm chủng của đơn vị tiêm chủng

## 3. AN TOÀN

Không áp dụng

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

Bước	Trình tự thực hiện	Mô tả
1	Tiếp nhận khách hàng và nhập thông tin người cần tiêm chủng	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Hỏi nhu cầu khách hàng cần tiêm gì và tiếp nhận nếu cơ sở có loại vắc xin khách hàng yêu cầu (trong trường hợp cơ sở không có lại vắc xin mà khách yêu cầu, nếu khách hàng cần tư vấn loại vắc xin khác thì cũng có thể tiếp nhận).</li> <li>- Thu thập thông tin khách hàng và nhập thông tin vào phần mềm tiêm chủng.</li> <li>- Thực hiện đo nhiệt độ (cân đo nếu là trẻ em) và ghi vào sổ tiêm chủng</li> </ul>

*Handwritten signatures*

Bước	Trình tự thực hiện	Mô tả
		- Hướng dẫn khách vào phòng khám sàng lọc
2	Kiểm tra đúng thông tin người cần tiêm chủng	Kiểm tra đúng thông tin so với thông tin trên sổ: -Hỏi họ tên -Hỏi ngày tháng năm sinh (xác định tuổi hiện tại)
3	Xác định/tư vấn các loại vắc xin sẽ tiêm Cung cấp thông tin về vắc xin	-Hỏi về nhu cầu tiêm chủng của khách hàng -Xác định/tư vấn các vắc xin có thể được chỉ định cho đối tượng được tiêm chủng - Giải thích công dụng, hiệu quả lợi ích của vắc xin được chỉ định - Cung cấp các phản ứng sau tiêm có thể xảy ra
4	Khám sàng lọc	-Hỏi tiền sử bệnh tật, tiền sử tiêm ngừa. - Khai thác tiền sử dị ứng. -Thăm khám đánh giá tình trạng sức khỏe hiện tại: <b>Đối với trẻ nhỏ:</b> bác sĩ trực tiếp thăm khám cho trẻ: quan sát tổng trạng, đo thân nhiệt, nghe tim-phổi. <b>Đối với người lớn:</b> Quát sát toàn trạng, đánh giá tình trạng sức khỏe hiện tại đối với người lớn, đo huyết áp khi cần. - Xác định các chỉ định và chống chỉ định, trường hợp tạm hoãn, chuyển khám sàng lọc và tiêm chủng tại bệnh viện của vắc xin dự kiến được tiêm trong buổi tiêm chủng.
5	Kết luận	Xem xét kết luận: + Đủ điều kiện tiêm chủng + Tạm hoãn tiêm chủng (thực hiện tiêm chủng khi đủ điều kiện) +Thực hiện tiêm chủng tại bệnh viện
6	Ghi phiếu sàng lọc, ghi chỉ định	-Nếu đối tượng tiêm chủng đủ điều kiện tiêm: + Thống nhất với đối tượng tiêm chủng hoặc cha/mẹ/người giám hộ về loại vắc xin, số lượng vắc xin sẽ được thực hiện trong buổi tiêm chủng + Giải thích lợi ích, hiệu quả của vắc xin, những



Bước	Trình tự thực hiện	Mô tả
		<p>tác dụng phụ có thể có và cách xử trí.</p> <p>+ Hẹn ngày để khách hàng đến tiêm mũi kế tiếp</p> <p>+ Ghi phiếu sàng lọc</p> <p>+ Ghi chỉ định vào phiếu (sổ) tiêm chủng</p> <p>+ Ghi đơn thuốc (nếu cần)</p> <p>-Nếu đối tượng tiêm chủng cần hoãn:</p> <p>+ Hẹn ngày có thể tiêm lại</p> <p>+ Ghi phiếu sàng lọc</p> <p>-Nếu đối tượng cần thực hiện tiêm chủng tại bệnh viện:</p> <p>+ Hướng dẫn đối tượng/cha/mẹ/người giám hộ đến bệnh viện có thực hiện tiêm chủng để được tiêm chủng</p>
7	Hướng dẫn theo dõi sau tiêm chủng	<p>- Dẫn người được tiêm theo dõi ít nhất 30 phút sau tiêm tại điểm tiêm chủng và theo dõi tại nhà ít nhất 24h sau tiêm.</p> <p>- Hướng dẫn khách hàng bước tiếp của quy trình tiêm chủng</p>
8	Thu tiền	Theo quy trình Thu tiền khám bệnh, tiêm ngừa

#### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

##### 4.3.1. Trả kết quả

Không áp dụng

##### 4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu (sổ) tiêm chủng
2	Bảng kiểm trước tiêm chủng với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện
3	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện

*Handwritten signatures and initials in blue ink.*

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
4	Bảng kiểm trước tiêm chủng đối với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện
5	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện

#### 4.3.3. Hồ sơ

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu (sổ) tiêm chủng	Khách hàng Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	Lâu dài
2	Bảng kiểm trước tiêm chủng với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
3	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
4	Bảng kiểm trước tiêm chủng đối với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
5	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện tư vấn và khám sàng lọc

#### 5.1.1. Các sai sót thường gặp:

Tiếp nhận sai đối tượng vào phòng khám sàng lọc dẫn đến chỉ định sai đối tượng

### 5.1.2. Xử trí và cách phòng tránh:

- Cần thực hiện đối chiếu 3 kiểm tra, 5 đúng:

+ Để khách hàng/người thân tự trả lời tên, ngày tháng năm sinh

+ Cần chắc chắn số tiêm chủng trên tay và đối tượng chuẩn bị được khám là một người

## 5.2. Trong quá trình tư vấn và khám sàng lọc

### 5.2.3. Các sai sót có thể gặp:

- Không thực hiện tư vấn

- Có thực hiện tư vấn nhưng tư vấn sai hoặc tư vấn thiếu thông tin

- Bỏ qua chống chỉ định, hoãn tiêm hoặc chỉ có thể tiêm chủng ở những đơn vị tiêm chủng tại các tuyến cao hơn

- Chỉ định sai vắc xin/sai liều/sai độ tuổi tiêm chủng

- Hoãn tiêm không đúng

### 5.2.4. Xử trí và cách phòng tránh:

- Luôn thực hiện tư vấn đầy đủ

- Tuân thủ đúng quyết định khám sàng lọc của Bộ Y tế

- Tập huấn thường xuyên và nắm vững các lịch tiêm chủng

- Dán lịch hoặc khoảng cách các loại vắc xin lên tường gần chỗ ngồi

- Cần khai thác thông tin chính xác từ đối tượng tham gia tiêm chủng và số/tiêm chủng cá nhân

- Hoãn tiêm cần dựa vào hướng dẫn hiện hành, hướng dẫn nhà sản xuất và các bằng chứng thông qua việc thăm khám, tư vấn tiêm chủng

- Nắm vững các lịch tiêm bắt kịp “catch up” để chỉ định tiêm phù hợp

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Không áp dụng

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nghị định số 104/NĐ-CP của Thủ tướng Chính phủ ngày 01 tháng 07 năm 2016 về Hoạt động tiêm chủng.

- Nghị định số 13/2024/NĐ-CP của Chính phủ ngày 05 tháng 02 năm 2024 về sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định số 104/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 7 năm 2016 của Chính phủ quy định về hoạt động tiêm chủng.

- Thông tư số 34/2016/TT-BYT của Bộ Y Tế ngày 16 tháng 11 năm 2018 quy định chi tiết một số điều của Nghị định số 104/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 07 năm 2016 của Chính phủ quy định về Hoạt động tiêm chủng.

- Thông tư số 23/2011/TT-BYT ngày 10 tháng 6 năm 2011 của Bộ trưởng Bộ Y tế về hướng dẫn sử dụng thuốc trong các cơ sở y tế có giường bệnh



- Thông tư số 51/2017/TT-BYT ngày 29 tháng 12 năm 2017 về Hướng dẫn phòng, chẩn đoán và xử trí phản vệ

- Quyết định 1622/QĐ-BYT ban hành ngày 08 tháng 05 năm 2014 về phê duyệt “hướng dẫn giám sát, phòng chống bệnh dại trên người”.

- Quyết định số: 1575/QĐ-BYT của Bộ Y Tế ngày 27 tháng 03 năm 2023, về việc ban hành Hướng dẫn khám sàng lọc trước tiêm chủng đối với trẻ em.

- Các hướng dẫn sử dụng vắc-xin, huyết thanh.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 309:****TIÊM HUYẾT THANH KHÁNG DẠI THEO ĐƯỜNG TIÊM PHÒNG BÉ****1. ĐẠI CƯƠNG****1.1 Mục đích**

- Quy trình hướng dẫn tiêm huyết thanh kháng dại theo đường tiêm phòng bé cho cán bộ y tế tại cơ sở tiêm chủng dịch vụ.

- Thực hành tốt công tác tiêm chủng đảm bảo an toàn, hiệu quả.

**1.2 Định nghĩa**

Không áp dụng.

**1.3 Nguyên lý**

Điều trị dự phòng nên được tiến hành càng sớm càng tốt sau khi bị phơi nhiễm, bao gồm: rửa vết thương, tiêm vắc xin phòng dại và sử dụng huyết thanh kháng dại nếu có chỉ định.

**2. CHUẨN BỊ****2.1 Người thực hiện**

- Nhân lực trực tiếp thực hiện tư vấn và chỉ định tiêm huyết thanh kháng dại là bác sĩ, hoặc y sĩ có chứng chỉ an toàn tiêm chủng theo qui định của BHYT; số lượng 01 người

- Điều dưỡng/Kỹ thuật viên thực hiện hướng dẫn, tiếp nhận khách hàng, đo thân nhiệt và cân đo (nếu là trẻ nhỏ) cho khách hàng; số lượng 01 người

- Điều dưỡng thực hiện tiêm huyết thanh kháng dại cho khách hàng; số lượng 01 người

- Theo dõi sau tiêm huyết thanh kháng dại: bác sĩ 01 người; điều dưỡng 01 người

**2.2 Vật tư****2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất**

- Huyết thanh kháng uốn ván

- Adrenalin 1 mg/1 mL/ống

- Methylprednisolon 40 mg/lọ

- Diphenhydramin 10 mg/ống

**2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Giấy in số thứ tự

- Phiếu chỉ định tiêm

- Găng tay

- Khẩu trang

- Trang phục chuyên môn (quần áo, mũ vải)

- Sổ ghi hồ sơ
- Xà phòng rửa tay
- Bông y tế
- Cồn
- Dung dịch rửa vết thương (nước muối sinh lý),
- Băng gạc
- Băng keo cá nhân
- Adrenalin 1mg (chống sốc),
- Dịch truyền (glucose 5%)
- Dây truyền dịch
- Kim luồn tĩnh mạch
- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Vật tư, hóa chất tiệt trùng, khử nhiễm PTN
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...
- Giấy vệ sinh

### **2.3 Thiết bị**

- Tủ lạnh 2-8 °C,
- Máy điều hòa,
- Máy tính, máy in, phần mềm lưu trữ thông tin khách hàng,
- Ống nghe,
- Nhiệt kế,
- Máy đo huyết áp,
- Dụng cụ cân đo trẻ em,
- Đèn soi

### **2.4 Chuẩn bị đối tượng được tiêm huyết thanh kháng dại**

Hướng dẫn khách hàng/thân nhân của khách hàng lấy số thứ tự và đợi đến lượt khám.

### **2.5 Phiếu/sổ tiêm chủng**

Phiếu/Sổ tiêm chủng với đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên đối tượng tiêm, giới tính, ngày tháng năm sinh địa chỉ, điện thoại, mã vạch tiêm chủng

### **2.6 Thời gian thực hiện tiêm huyết thanh kháng dại**

Tiêm huyết thanh càng sớm càng tốt ngay sau khi bệnh nhân bị động vật nghi dại cắn và chưa có dấu hiệu lên cơn dại. Không sử dụng huyết thanh kháng dại sau 7 ngày kể từ mũi tiêm vắc xin đầu tiên.



## 2.7 Địa điểm thực hiện tiêm huyết thanh kháng dại

Phòng tiêm chủng đạt tiêu chuẩn điểm tiêm phòng dại thực hiện theo Thông tư số 12/2014/TT-BYT ngày 20/3/2014 của Bộ Y tế về Hướng dẫn việc quản lý sử dụng vắc xin trong tiêm chủng và các quy định hiện hành khác.

### 3. AN TOÀN

Không áp dụng

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1 Các bước thực hiện

#### 4.1.1 Bước 1: Đăng ký lấy số thứ tự

- Khách tới tiêm chủng đăng ký và lấy số thứ tự tại khu vực hướng dẫn để chờ gặp bác sĩ khám.

#### 4.1.2 Bước 2: Khám và tư vấn trước tiêm

- Bác sĩ tư vấn lấy thông tin của khách và ghi vào phiếu tiêm chủng.  
- Hỏi về tiền sử tiêm ngừa, tình trạng dị ứng, phản ứng nặng với các loại thuốc, vắc xin, huyết thanh của khách và gia đình.

- Bác sĩ tiến hành khám sàng lọc, đánh giá tình trạng vết thương do động vật cắn.

- Bác sĩ chỉ định tiêm tiêm huyết thanh kháng dại và tư vấn cho khách các thông tin về loại huyết thanh kháng dại được chỉ định phòng bệnh dại; hướng dẫn theo dõi các phản ứng có thể gặp sau tiêm; hướng dẫn theo dõi các phản ứng dị ứng chậm có thể xảy ra cần nhận biết để đưa đến cơ sở y tế gần nhất xử lý cấp cứu.

- Hướng dẫn chăm sóc sau tiêm.

- Ghi lịch hẹn tiêm chủng lần tiếp theo vào phiếu tiêm chủng.

- Các trường hợp tạm hoãn tiêm chủng:

- + Phản ứng quá mẫn đối với huyết thanh kháng dại.
- + Theo hướng dẫn của nhà sản xuất đối với từng loại huyết thanh kháng dại.
- + Bác sĩ tư vấn giải thích về trường hợp hoãn tiêm hoặc chống chỉ định cho khách và hướng dẫn đến tiêm ở bệnh viện tuyến trên nơi có chức năng và đầy đủ các phương tiện cấp cứu.

#### 4.1.3 Bước 3: Nộp phí

- Khách làm thủ tục thanh toán và nhận phiếu thu, hóa đơn tại quầy thu phí.

#### 4.1.4 Bước 4: Kiểm tra đối chiếu trước khi tiêm

Cán bộ tiêm chủng kiểm tra đối chiếu thông tin của khách trước khi tiêm theo các quy tắc:

- Đúng đối tượng
- Đúng lịch tiêm
- Đúng loại huyết thanh, còn hạn sử dụng

- Đúng liều lượng
- Đúng đường tiêm

#### 4.1.5 Bước 5: Thực hiện tiêm chủng

- Thực hiện thử phản ứng trước khi tiêm huyết thanh kháng dại, nhất là các trường hợp có tiền sử dị ứng.

- Sau khi đủ điều kiện tiêm huyết thanh, cán bộ tiêm chủng xử lý vết thương và thực hiện tiêm huyết thanh cho khách:

- Xử lý vết thương:

+ Xối rửa kỹ tất cả các vết cắn/cào trong 15 phút với nước và xà phòng, hoặc nước sạch, sau đó sát khuẩn bằng cồn 45°-70° hoặc cồn i-ốt để làm giảm thiểu lượng vi rút dại tại vết cắn. Có thể sử dụng các chất khử trùng thông thường như rượu, cồn, xà phòng các loại, dầu gội, dầu tắm để rửa vết thương ngay sau khi bị cắn.

+ Không làm dập nát thêm vết thương hoặc làm tổn thương rộng hơn, tránh khâu kín ngay vết thương. Trường hợp bắt buộc phải khâu thì nên trì hoãn khâu vết thương sau vài giờ đến 3 ngày và nên khâu ngắt quãng/bỏ mũi sau khi đã tiêm phòng bế huyết thanh kháng dại vào tất cả các vết thương.

- Tiêm huyết thanh: Tiêm phong bế tại vùng vết thương bị động vật cắn để huyết thanh kháng dại thấm sâu vào bên trong và xung quanh vết thương tới mức tối đa. Phần huyết thanh còn lại tiêm bắp sâu ở vị trí cách xa vị trí tiêm vắc xin dại. Các vết thương ở vị trí giải phẫu đặc biệt (như các đầu ngón tay) phải thấm đẫm một cách cẩn thận. Trong trường hợp bị nhiều vết cắn mà số lượng huyết thanh cần tiêm không đủ nhiều để tiêm cho toàn bộ các vết thương (do cân nặng của bệnh nhân ít) thì pha loãng huyết thanh từ 2-3 lần với nước muối sinh lý để đảm bảo tất cả các vết thương đều được tiêm huyết thanh kháng dại.

- Bơm tiêm, kim tiêm và vật sắc nhọn phải cho vào hộp an toàn ngay sau khi tiêm.
- Xử lý rác thải y tế sau tiêm theo đúng quy định.

#### 4.1.6 Bước 6: Theo dõi sau tiêm chủng

- Chuyển khách tiêm chủng sang khu vực theo dõi sau tiêm, theo dõi ít nhất 30 phút sau khi tiêm.

- Hướng dẫn gia đình hoặc khách tiêm chủng tiếp tục theo dõi tại nhà ít nhất 24 giờ sau tiêm, đưa ngay đến bệnh viện hoặc cơ sở y tế nếu có dấu hiệu sau: dị ứng ngứa, mệt, choáng, khờ thờ, sốt cao, co giật, trẻ khóc thét, quấy khóc kéo dài, phát ban hoặc các triệu chứng bất thường khác.

#### 4.2 Nhận định kết quả:

Không áp dụng

#### 4.3 Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Lưu trữ hồ sơ và báo cáo theo Chế độ báo cáo tại Quyết định 1622/QĐ-BYT năm 2014 phê duyệt Hướng dẫn giám sát, phòng chống bệnh dại trên người do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành.



## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1 Trước khi thực hiện tư vấn và khám sàng lọc

- Các sai sót thường gặp:

+ Tiếp nhận sai đối tượng vào phòng khám sàng lọc dẫn đến chỉ định sai đối tượng

+ Xử trí và cách phòng tránh: Cần thực hiện đối chiếu 3 kiểm tra, 5 đúng

+ Để khách hàng/người thân tự trả lời tên, ngày tháng năm sinh

+ Cần chắc chắn số tiêm chủng trên tay và đối tượng chuẩn bị được khám là một người

### 5.2 Trong quá trình tư vấn và khám sàng lọc

- Các sai sót có thể gặp:

+ Không thực hiện tư vấn

+ Có thực hiện tư vấn nhưng tư vấn sai hoặc tư vấn thiếu thông tin

+ Bỏ qua chống chỉ định, hoãn tiêm hoặc chỉ có thể tiêm chủng ở những đơn vị tiêm chủng tại các tuyến cao hơn

+ Nhận định sai vết thương.

+ Hoãn tiêm không đúng

-Xử trí và cách phòng tránh:

+ Luôn thực hiện tư vấn đầy đủ

+ Tuân thủ đúng quyết định khám sàng lọc của Bộ Y tế

+ Tập huấn thường xuyên và nắm vững phác đồ điều trị dự phòng bệnh dại

+ Hoãn tiêm cần dựa vào hướng dẫn hiện hành, hướng dẫn nhà sản xuất và các bằng chứng thông qua việc thăm khám.

### 5.3 Sau khi thực hiện tiêm chủng:

- Các sai sót có thể gặp:

+ Tiêm sai loại huyết thanh/sai liều/sai đường tiêm do chữ viết trong sổ tiêm chủng không rõ ràng

- Xử trí và cách phòng tránh:

+ Cần ghi chép trong sổ/phiếu tiêm chủng một cách rõ ràng và chính xác tên huyết thanh/vắc xin, liều lượng, đường tiêm, ngày tiêm và số liều

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG:

Không áp dụng

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Quy định về sử dụng vắc xin và sinh phẩm y tế trong dự phòng và điều trị, ban hành kèm theo Quyết định số 23/2008/QĐ-BYT ngày 07/7/2008 của Bộ trưởng Bộ Y tế.



- Chỉ thị 01/CT-BYT ngày 18 tháng 01 năm 2013 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc tăng cường an toàn tiêm chủng và giám sát các phản ứng sau tiêm chủng.

- Quyết định số 1622/QĐ-BYT ngày 8/5/2014 của Bộ Y tế về việc hướng dẫn và giám sát phòng chống bệnh dại trên người.

- Nghị định 104/2016/NĐ-CP ngày 1/7/2016 của Chính phủ quy định về hoạch định tiêm chủng.

- Quyết định số 2470/QĐ-BYT ngày 14/6/2019 của Bộ Y tế về việc ban hành hướng dẫn khám sàng lọc trước tiêm chủng đối với trẻ em.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 310:**

**TIÊM HUYẾT THANH KHÁNG UỐN VÁN THEO ĐƯỜNG TIÊM BẮP**

**1. ĐẠI CƯƠNG**

**1.1 Mục đích**

- Hướng dẫn thực hiện đúng các trình tự tiêm huyết thanh kháng uốn ván.
- Tiêm đúng huyết thanh, đúng đối tượng.

**1.2 Định nghĩa**

1.2.1. Giải thích từ ngữ

- **Khách hàng:** người có nhu cầu tiêm chủng/người được tiêm chủng
- **Người thân của khách hàng:** Là ông/bà/cha/mẹ hoặc người giáp hộ hợp pháp đưa trẻ đi tiêm chủng
- **Huyết thanh uốn ván:** Là một loại sinh phẩm y tế có nguồn gốc từ người hoặc động vật, trong thành phần có chứa kháng thể kháng độc tố uốn ván.
- **Sai sót liên quan đến thực hành tiêm chủng:** là sai sót gây ra do việc sử dụng vắc xin sai và gây ra các biến cố bất lợi tới đối tượng tiêm chủng. Đó có thể là những sai sót liên quan đến thực hành chuyên môn, vật tư tiêm chủng, quá trình bảo quản, pha hồi chích, tiêm chủng và theo dõi biến cố bất lợi sau tiêm chủng

1.2.2. Từ viết tắt

- BKT: Bơm kim tiêm
- KTV: Kỹ thuật viên
- PUSTC: phản ứng sau tiêm chủng
- VPP: Văn phòng phẩm

**1.3 Nguyên lý**

Tiêm chủng cần thực hiện đầy đủ theo các bước:

- Trước tiêm chủng: Khám sàng lọc, tư vấn cho đối tượng tiêm chủng. Trường hợp đối tượng tiêm chủng là trẻ em thì việc tư vấn thực hiện với cha, mẹ hoặc người giám hộ của trẻ;
- Trong khi tiêm chủng: thực hiện tiêm chủng theo đúng chỉ định, bảo đảm an toàn;
- Sau khi tiêm chủng: Theo dõi người được tiêm chủng ít nhất 30 phút sau tiêm chủng và hướng dẫn gia đình hoặc đối tượng tiêm chủng để tiếp tục theo dõi ít nhất 24 giờ sau tiêm chủng.

**2. CHUẨN BỊ**

**2.1. Người thực hiện**

- Y sĩ trình độ từ trung cấp trở lên/Bác sĩ trình độ từ đại học trở lên: 01 người
- Điều dưỡng trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người

*Sun*      *hmd*

- Nhân viên tiếp nhận trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người
- Tiếp nhận, phân phối và bảo quản vắc xin trình độ từ trung cấp trở lên: 02 người
- Nhân sự nghe điện thoại đường dây nóng trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người

## **2.2. Vật tư**

### **2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất**

- Huyết thanh kháng uốn ván
- Adrenalin 1 mg/1 mL/ống
- Methylprednisolon 40 mg/lọ
- Diphenhydramin 10 mg/ống
- Nước cất 10 mL/ống
- Dung dịch Sodium clorid 0,9%
- Nước tẩy quần áo
- Cồn 70 %/dung dịch khử trùng nhanh
- Viên nén dùng cho khử nhiễm
- Nước sát khuẩn tay
- Bột giặt
- Chloramin B (lau sàn khu phòng khám)

### **2.2.2. Vật tư tiêu hao**

- Trang bị bảo hộ cá nhân
- Khẩu trang
- Găng tay các loại
- Bơm kim tiêm các loại: loại 3mL; kim tiêm 23- 25G, độ dài kim từ 2,5-3,5 cm.
- Bông gòn khô vô trùng, gạc tẩm cồn loại đóng gói sẵn, cồn 70 độ, băng keo cá nhân và bộ dụng cụ tiêm chủng (pen, kéo, kẹp, hộp đựng dụng cụ).
- Hộp an toàn, thùng đựng rác, túi hoặc hộp đựng vỏ vắc xin.
- Thùng nhựa, chậu nhựa
- Nước sát khuẩn.
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

## **2.3. Thiết bị**

### **2.3.1 Trang thiết bị chung**

- Ống nghe, nhiệt kế, đê lưỡi, máy đo huyết áp, dụng cụ cân đo trẻ em, đèn soi ...
- Tủ lạnh, hòm lạnh, phích lạnh phục vụ bảo quản huyết thanh
- Kho lạnh bảo quản vắc xin, máy phát điện dự phòng
- Máy tính, máy in, máy photo, máy scan ...



- Phần mềm quản lý tiêm chủng, phần mềm thu phí, ...

### 2.3.2 Trang thiết bị y tế và thuốc tối thiểu cấp cứu phản vệ

- Bình Oxy
- Bóng AMBU và mặt nạ người lớn và trẻ nhỏ
- Bơm xịt salbutamol
- Các thuốc chống dị ứng đường uống
- Dịch truyền: natriclorid 0,9%.

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện tiêm

- Đối tượng được tiêm phải được khám sàng lọc và đã có chỉ định tiêm, có sổ/phiếu đã có chỉ định của bác sĩ/y sĩ.

### 2.5. Phiếu chỉ định tiêm

- Sổ tiêm chủng/phiếu chỉ định tiêm.
- Kiểm tra phiếu/ sổ chỉ định tiêm chủng: đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên đối tượng tiêm chủng, giới tính, ngày tháng năm sinh, địa chỉ, điện thoại, loại huyết thanh cần tiêm...

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

6-7 phút/1 kỹ thuật tiêm huyết thanh kháng uốn ván

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Thực hiện tiêm chủng tại phòng tiêm chủng của đơn vị tiêm chủng.

## 3. AN TOÀN

- Thực hiện tiêm an toàn trong và sau buổi tiêm
- Chỉ tiếp nhận và tiêm cho khách hàng có chỉ định tiêm hợp lệ (đã được khám sàng lọc và có chỉ định của bác sĩ/y sĩ)
  - Luôn tuân thủ đường tiêm theo đúng chỉ định của nhà sản xuất vắc xin
  - Luôn kiểm tra sự đầy đủ của hộp thuốc chống sốc trước mỗi buổi tiêm
  - Mỗi bàn tiêm chỉ tiếp nhận 01 người mỗi lần. Chỉ tiêm cho trẻ khi có mặt của người thân
  - Tiêm huyết thanh kháng uốn ván và vắc xin uốn ván ở hai vị trí giải phẫu xa nhau
  - KHÔNG được chạm kim tiêm vào bất cứ bề mặt nào đã nhiễm bẩn.
  - KHÔNG được cầm nắm, đụng chạm tay vào pít tông, đầu âm bu, thân kim tiêm trong quá trình chuẩn bị vắc xin.
  - KHÔNG được sử dụng lại bơm tiêm kể cả khi đã thay kim tiêm.
  - KHÔNG đụng chạm vào nắp cao su của lọ huyết thanh.
  - KHÔNG rút ngược pít tông trước khi bơm thuốc.
  - KHÔNG rút sẵn huyết thanh.

## 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 4.1. Các bước thực hiện

STT	Nội dung thực hiện	Mô tả
1	Tiếp đón khách hàng	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hỏi nhu cầu khách hàng</li> <li>- Thu thập thông tin khách hàng và nhập thông tin vào phần mềm tiêm chủng.</li> <li>- Thực hiện đo nhiệt độ, cân đo (nếu là trẻ em) và ghi vào sổ tiêm chủng</li> <li>- Phát số thứ tự và hướng dẫn chờ tới lượt vào phòng khám sàng lọc</li> </ul>
2	Tư vấn và khám sàng lọc trước tiêm	Khám sàng lọc theo quy trình “Tư vấn và khám sàng lọc trước tiêm chủng”
3	Thu tiền tiêm chủng	Theo quy trình thu tiền tại đơn vị
4	Thực hiện tiêm huyết thanh uốn ván	<p><b>-Thực hiện 3 tra-5 đúng: 3 tra</b> (họ tên, năm sinh của khách hàng; Tên thuốc, Liều thuốc); <b>5 đúng</b> (Đúng người bệnh, Đúng thuốc, Đúng liều, Đúng đường dùng, Đúng thời gian)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Sát khuẩn tay bằng dung dịch sát khuẩn tay nhanh</li> <li>- Lấy huyết thanh kháng uốn ván (theo chỉ định) từ dây chuyền lạnh (tủ lạnh/hòm lạnh/phích lạnh/...). Kiểm tra tính nguyên vẹn của vỏ hộp (nếu có),</li> <li>- Cho khách hàng/người thân thấy được nhãn hiệu của huyết thanh đồng thời thông báo về: Tên, liều lượng, nhà sản xuất, hạn dùng của huyết thanh.</li> <li>- Tiêm huyết thanh theo chỉ định của y/bác sỹ:</li> <li>+ Lựa chọn vị trí tiêm phù hợp theo tuổi: Đối với trẻ dưới 12 tháng tuổi tiêm vào 1/3 giữa mặt trước ngoài đùi, đối với các trẻ từ 12 tháng trở lên tiêm vào vùng cơ delta. Thông báo với khách hàng về vị trí tiêm. Đối với trẻ nhỏ, hướng dẫn người nhà giữ trẻ đúng tư thế trước khi tiêm.</li> <li>+Sát khuẩn tay nhanh bằng dung dịch sát khuẩn tay nhanh ngay trước khi chuẩn bị huyết thanh</li> <li>+ Quan sát xem huyết thanh có phần tử lạ hay bất thường</li> </ul>

STT	Nội dung thực hiện	Mô tả
		<p>nào hay không. Biệt trừ lọ huyết thanh nếu có bất thường, lấy lọ huyết thanh khác thay thế</p> <p>+ Chuẩn bị BKT, đảm bảo kim tiêm gắn chắc vào bơm tiêm, rút huyết thanh vào bơm tiêm, đẩy khí dư.</p> <p>+ Sát trùng vị trí tiêm bằng miếng gạc tẩm cồn (dùng kẹp không dùng tay), sát trùng vùng tiêm theo hình xoắn ốc từ trong ra ngoài 1 khoảng đường kính 5cm, chờ đến khi khô cồn mới tiến hành tiêm</p> <p>+ <i>Thực hiện tiêm kỹ thuật tiêm bắp để tiêm huyết thanh kháng uốn ván:</i> căng da vùng tiêm, tay còn lại cầm BKT, đưa kim một góc 90 độ so với mặt da. Đẩy kim nhanh, sâu, bơm thuốc chậm. Đợi 10 giây để thuốc khuếch tán trong cơ. Rút kim nhanh, chèn gòn khô vào vị trí tiêm, dán băng keo cá nhân cố định gòn.</p> <p>- Thông báo cho khách hàng/người thân biết đã tiêm xong. Dẫn khách hàng ngồi theo dõi 30 phút theo dõi sau tiêm tại khu vực theo dõi sau tiêm. Về nhà theo dõi ít nhất 24 giờ, nếu cần hỗ trợ thì đến ngay cơ sở y tế gần nhất và thông báo với cơ sở tiêm chủng.</p> <p>- <i>Xử lý vỏ lọ vắc xin và huy BKT đã sử dụng:</i> Sau khi tiêm xong bỏ ngay BKT vào hộp an toàn. Phân loại và bỏ vỏ lọ vắc xin vào thùng rác thải y tế theo quy định. Thu dọn dụng cụ, xử lý rác thải khác theo quy định.</p>
5	Theo dõi và xử lý PUSTC	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Khách hàng ở lại khu vực theo dõi sau tiêm để theo dõi ít nhất 30 phút sau tiêm.</li> <li>- Khách hàng có thể ra về sau 30 phút nếu không có phản ứng</li> <li>- Xử lý các PUSTC nếu có xảy ra</li> </ul>
6	Nhập liệu và báo cáo	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nhập dữ liệu tiêm chủng</li> <li>- Thực hiện các báo cáo theo quy định</li> </ul>

#### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

4.3.1. Trả kết quả: không áp dụng

4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu






STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu (số) tiêm chủng
2	Bảng kiểm trước tiêm chủng với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện
3	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện
4	Bảng kiểm trước tiêm chủng đối với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện
5	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện
6	Báo cáo các trường hợp phản ứng thông thường sau tiêm chủng
7	Báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng

## 4.3.3. Hồ sơ

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu (số) tiêm chủng	Khách hàng Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	Lâu dài
2	Bảng kiểm trước tiêm chủng với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
3	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
4	Bảng kiểm trước tiêm chủng đối với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
5	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
6	Báo cáo các trường hợp phản ứng thông thường sau tiêm chủng	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy	10 năm
7	Báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy	10 năm

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1 Trước khi thực hiện kỹ thuật

#### 5.1.1 Sai sót trong khám sàng lọc đối tượng tiêm

##### a. Sai sót trong quá trình tư vấn tiêm

- Không khai thác hết tiền sử dị ứng, tiền sử các phản ứng bất lợi sau tiêm của các mũi tiêm trước, bỏ sót tiền sử bệnh nền, tiền sử dùng thuốc...

- Không tư vấn kỹ cho người được tiêm, người giám hộ nhận biết hết những phản ứng bất lợi sau tiêm, hướng dẫn xử trí ban đầu phù hợp.

**Xử trí và cách phòng tránh:** Cần tư vấn đầy đủ:

- Lợi ích và nguy cơ khi tiêm huyết thanh để có cách phòng tránh phù hợp
- Cung cấp các nguồn thông tin chính thống để người dân tham khảo
- Cung cấp số điện thoại đường dây nóng để giải đáp thắc mắc và tư vấn về biến cố bất lợi sau tiêm chủng.

##### b. Sai sót trong khám sàng lọc và chỉ định tiêm chủng

- Bỏ qua chống chỉ định, hoãn tiêm
- Chỉ định sai liều
- Chỉ định sai đối tượng

**Xử trí và cách phòng tránh**

- Tuân thủ đúng quyết định khám sàng lọc của Bộ Y tế
- Tập huấn thường xuyên và nắm vững các lịch tiêm chủng
- Dán lịch hoặc khoảng cách các loại vắc xin lên tường gần chỗ ngồi
- Cần khai thác thông tin chính xác từ đối tượng tham gia tiêm chủng và sổ / phiếu tiêm chủng cá nhân

*Được* *mm*

- Nắm vững các lịch tiêm bắt kịp “catch up” để chỉ định tiêm phù hợp

*c. Sai sót liên quan đến bảo quản huyết thanh*

- Huyết thanh bị phơi nhiễm với nhiệt độ cao thường xuyên và lâu dài

- Huyết thanh hết hạn sử dụng

**- Xử trí và cách phòng tránh**

- Đọc nhiệt độ ít nhất 2 lần/ngày và ghi vào phiếu theo dõi nhiệt độ

- Sử dụng thiết bị theo dõi nhiệt độ điện tử và kiểm tra dữ liệu của thiết bị ít nhất 1 tuần/lần

- Kiểm tra hạn sử dụng hàng tuần và loại bỏ vắc xin/huyết thanh khi hết hạn sử dụng

- Phân công một cán bộ quản lý vắc xin chính và một cán bộ dự phòng

- Chỉ sử dụng các thiết bị bảo quản vắc xin / huyết thanh khi thiết bị đã được hiệu chuẩn và còn hạn sử dụng

- Có quy trình đáp ứng sự cố khẩn cấp, niêm phong/biệt trừ riêng các vắc xin/ huyết thanh đã phơi nhiễm với nhiệt độ ngoài khoảng quy định và thông báo cho đồng nghiệp, cán bộ quản lý

- Quan tâm vắc xin/huyết thanh (như bệnh nhân ICU) khi nhiệt độ đến ngưỡng giới hạn cảnh báo ( $\leq 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  hoặc  $\geq 7\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Đảm bảo theo dõi đủ, điều chỉnh nhiệt độ hợp lý đến khi nào nhiệt độ về lại khoảng  $(4-6)\text{ }^{\circ}\text{C}$  và ổn định trong 1 khoảng thời gian thì mới nên quay lại chế độ theo dõi bình thường là 2 lần/ngày

- Độ đồng đều nhiệt trong quá trình bảo quản: cần thẩm định để đánh giá hàng năm

- Khuyến khích sử dụng thiết bị theo dõi có đầu dò được bảo quản trong dung dịch glycol nhằm giảm nhận định sai về nhiệt độ bảo quản.

**Xử trí và cách phòng tránh:**

- Liệt kê các loại vắc xin/nhà sản xuất/thành phần vào sổ tay

- Chỉ sử dụng dung môi và vắc xin cùng loại và cùng nhà sản xuất (không thể thay thế cho nhau).

- Dán nhãn rõ ràng để phân biệt (khoanh tròn hoặc bôi màu thông tin trên nhãn) của dung môi nếu nhãn của nhà sản xuất có thể gây hiểu nhầm.

- Nên bảo quản, đóng gói và phân phối cùng nhau.

- Kiểm tra 3 lần tại 3 thời điểm khác nhau.

- Tập huấn thường xuyên để nhân viên hiểu rõ tầm quan trọng của việc thực hành đúng này

**5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật**

- Tiêm nhầm thuốc

- Tiêm sai đường tiêm

- Tiêm sai liều tiêm



- Tiêm sai đối tượng
- Chạm tay vào những vị trí không được phép của bơm kim tiêm trước khi tiêm chủng cho đối tượng
- Tay hoặc vật không vô trùng ấn vào chỗ tiêm chảy máu
- Bơm kim tiêm đâm, chọc trúng cơ thể

**Xử trí và cách phòng tránh:**

- Thực hiện 3 tra, 5 đúng
- Không bảo quản vắc xin chung với các loại thuốc khác
- Đánh dấu màu nhãn, mác theo lứa tuổi
- Bảo quản vắc xin ở các kệ, vị trí khác nhau trong trường hợp: Cùng 1 loại vắc xin nhưng hàm lượng khác nhau cho người lớn và trẻ em, có hình dạng giống nhau và tên gọi giống nhau
- Khi ghi chép thông tin tiêm chủng, chỉ sử dụng chữ viết tắt tiêu chuẩn (nếu có), không tự ghi tên viết tắt vắc xin theo ý mình (ví dụ ghi tên vắc xin 5 trong 1 thành vắc xin Hib, vắc xin DPT thành DTC...).
- Chữ viết cần rõ ràng, dễ đọc.
- Kiểm tra, đối chiếu đối tượng trước tiêm chủng
- Cán bộ tiêm phải được đào tạo và thành thạo các kỹ thuật tiêm

**5.3 Sau khi thực hiện kỹ thuật**

- Không hướng dẫn đối tượng tiêm chủng ở lại theo dõi sức khỏe ít nhất 30 phút và theo dõi tại nhà ít nhất 24 giờ
- Không hướng dẫn đối tượng nhận diện và xử lý ban đầu những dấu hiệu, triệu chứng bất thường có thể gặp sau tiêm chủng.
- Không nhận diện, phát hiện các trường hợp tai biến nặng sau tiêm chủng
- Phát hiện nhưng không ghi nhận báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng

**Xử trí và cách phòng tránh:**

- Tư vấn và hướng dẫn đầy đủ cho đối tượng sau tiêm
- Dặn dò và theo dõi đối tượng sau tiêm chủng đủ thời gian quy định
- Báo cáo phản ứng sau tiêm theo quy định

**6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

Không áp dụng

**7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Nghị định số 104/NĐ-CP của Chính phủ ngày 01 tháng 07 năm 2016 về Hoạt động tiêm chủng.

- Nghị định số 13/2024/NĐ-CP của Chính phủ ngày 05 tháng 02 năm 2024 về sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định số 104/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 7 năm 2016 của Chính phủ quy định về hoạt động tiêm chủng.
- Thông tư số 23/2011/TT-BYT ngày 10 tháng 6 năm 2011 của Bộ Y tế về hướng dẫn sử dụng thuốc trong các cơ sở y tế có giường bệnh.
- Thông tư số 51/2017/TT-BYT ngày 29 tháng 12 năm 2017 về Hướng dẫn phòng, chẩn đoán và xử trí phản vệ.
- Thông tư số 34/2016/TT-BYT của Bộ Y Tế ngày 16 tháng 11 năm 2018 quy định chi tiết một số điều của Nghị định số 104/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 07 năm 2016 của Chính phủ quy định về Hoạt động tiêm chủng.
- Quyết định số 3671/QĐ-BYT ban hành ngày 27/09/2012 về việc phê duyệt các hướng dẫn kiểm soát nhiễm khuẩn
- Quyết định số: 1575/QĐ-BYT của Bộ Y Tế ngày 27 tháng 03 năm 2023, về việc ban hành Hướng dẫn khám sàng lọc trước tiêm chủng đối với trẻ em
- Hướng dẫn sử dụng huyết thanh kháng độc tố uốn ván SAT của Viện Vắc xin và sinh phẩm y tế.

**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 311:  
TIÊM VẮC XIN DỊCH VỤ THEO ĐƯỜNG TIÊM BẮP**

**1. ĐẠI CƯƠNG**

**1.1. Mục đích**

- Hướng dẫn thực hiện đúng các trình tự tiêm vắc xin theo đường tiêm bắp.
- Tiêm đúng vắc xin, đúng đối tượng.

**1.2. Định nghĩa**

1.2.1. Giải thích từ ngữ

- **Khách hàng:** người có nhu cầu tiêm chủng/người được tiêm chủng
- **Người thân của khách hàng:** Là ông/bà/cha/mẹ hoặc người giám hộ hợp pháp đưa trẻ đi tiêm chủng

- **Sai sót liên quan đến thực hành tiêm chủng:** là sai sót gây ra do việc sử dụng vắc xin sai và gây ra các biến cố bất lợi tới đối tượng tiêm chủng. Đó có thể là những sai sót liên quan đến thực hành chuyên môn, vật tư tiêm chủng, quá trình bảo quản, pha hồi chỉnh, tiêm chủng và theo dõi biến cố bất lợi sau tiêm chủng.

1.2.2. Từ viết tắt

- BKT: Bơm kim tiêm
- KTV: Kỹ thuật viên
- PUSTC: phản ứng sau tiêm chủng
- VPP: Văn phòng phẩm

**1.3. Nguyên lý**

Tiêm chủng cần thực hiện đầy đủ theo các bước:

- Trước tiêm chủng: Khám sàng lọc, tư vấn cho đối tượng tiêm chủng. Trường hợp đối tượng tiêm chủng là trẻ em thì việc tư vấn thực hiện với cha, mẹ hoặc người giám hộ của trẻ;
- Trong khi tiêm chủng: thực hiện tiêm chủng theo đúng chỉ định, bảo đảm an toàn;
- Sau khi tiêm chủng: Theo dõi người được tiêm chủng ít nhất 30 phút sau tiêm chủng và hướng dẫn gia đình hoặc đối tượng tiêm chủng để tiếp tục theo dõi ít nhất 24 giờ sau tiêm chủng.

**2. CHUẨN BỊ**

**2.1. Người thực hiện**

- Y sĩ trình độ từ trung cấp trở lên/Bác sĩ trình độ từ đại học trở lên: 01 người
- Điều dưỡng trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người
- Nhân viên tiếp nhận trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người
- Tiếp nhận, phân phối và bảo quản vắc xin trình độ từ trung cấp trở lên: 02 người



- Nhân sự nghe điện thoại đường dây nóng trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người

## 2.2. Vật tư

### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Vắc xin phòng bệnh tiêm bắp
- Adrenalin 1 mg/1 mL/ống
- Methylprednisolon 40 mg/lọ
- Diphenhydramin 10 mg/ống
- Nước cất 10 mL/ống
- Dung dịch Sodium clorid 0,9%
- Nước tẩy quần áo
- Cồn 70 %/dung dịch khử trùng nhanh
- Viên nén dùng cho khử nhiễm
- Nước sát khuẩn tay
- Bột giặt
- Chloramin B (lau sàn khu phòng khám)

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Trang phục chuyên môn, khẩu trang
- Găng tay các loại
- Bơm kim tiêm các loại: loại 1mL, 3mL, 5mL; kim tiêm dành cho tiêm bắp 23G-25G, độ dài kim từ 2,5-4 cm. Số lượng: 01 cây.
- Bông gòn khô vô trùng, gạc tẩm cồn loại đóng gói sẵn, cồn 70 độ, băng keo cá nhân và bộ dụng cụ tiêm chủng (pen, kéo, kẹp, hộp đựng dụng cụ).
- Hộp an toàn, thùng đựng rác, túi hoặc hộp đựng vỏ vắc xin.
- Thùng nhựa, chậu nhựa
- Nước sát khuẩn.
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...

## 2.3. Thiết bị

### 2.3.1 Trang thiết bị chung

- Ống nghe, nhiệt kế, đũa lược, máy đo huyết áp, dụng cụ cân đo trẻ em, đèn soi ...
- Tủ lạnh, hòm lạnh, phích lạnh phục vụ bảo quản huyết thanh
- Kho lạnh bảo quản vắc xin, máy phát điện dự phòng
- Máy tính, máy in, máy photo, máy scan ...
- Phần mềm quản lý tiêm chủng, phần mềm thu phí, ...

### 2.3.2 Trang thiết bị y tế và thuốc tối thiểu cấp cứu phản vệ

- Bình Oxy
- Bóng AMBU và mặt nạ người lớn và trẻ nhỏ
- Bơm xịt salbutamol
- Các thuốc chống dị ứng đường uống
- Dịch truyền: natriclorid 0,9%.

#### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện tiêm chủng vắc-xin**

Đối tượng được tiêm phải được khám sàng lọc và đã có chỉ định tiêm, có sổ/phiếu đã có chỉ định của bác sĩ/y sĩ.

#### **2.5. Phiếu/sổ tiêm chủng**

- Sổ tiêm chủng/ phiếu chỉ định tiêm chủng.
- Kiểm tra phiếu/ sổ chỉ định tiêm chủng: đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên đối tượng tiêm chủng, giới tính, ngày tháng năm sinh, địa chỉ, điện thoại, loại vắc xin cần tiêm ...

#### **2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật tiêm**

4-5 phút/1 mũi tiêm

#### **2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật**

Thực hiện tiêm chủng tại phòng tiêm chủng của đơn vị tiêm chủng

### **3. AN TOÀN**

- Thực hiện tiêm chủng an toàn trong và sau buổi tiêm chủng
- Chỉ tiếp nhận và tiêm cho khách hàng có chỉ định tiêm chủng hợp lệ (đã được khám sàng lọc và có chỉ định của bác sĩ/y sĩ)
  - Luôn tuân thủ đường tiêm theo đúng chỉ định của nhà sản xuất vắc xin
  - Luôn kiểm tra sự đầy đủ của hộp thuốc chống sốc trước mỗi buổi tiêm chủng
  - Mỗi bàn tiêm chỉ tiếp nhận 01 người mỗi lần. Chỉ tiêm cho trẻ khi có mặt của người thân
  - Nếu tiêm nhiều loại vắc xin cho một đối tượng trong cùng một buổi tiêm: ưu tiên tiêm ở các vị trí cách xa nhau (hai bên tay, hai bên đùi). Trong trường hợp không thể áp dụng tiêm ở các vị trí xa nhau, khoảng cách hai vị trí tiêm  $\geq 2,54\text{cm}$  (01inch)
  - Nếu trong một buổi tiêm có nhiều mũi vắc xin được chỉ định, ưu tiên vắc xin uống trước (nếu có), tiêm mũi tiêm ít đau trước.
  - KHÔNG được chạm kim tiêm vào bất cứ bề mặt nào đã nhiễm bẩn.
  - KHÔNG được cầm nắm, đụng chạm tay vào pittông, đầu âm bu, thân kim tiêm trong quá trình chuẩn bị vắc xin.
  - KHÔNG được sử dụng lại bơm tiêm kể cả khi đã thay kim tiêm.
  - KHÔNG đụng chạm vào nắp cao su của lọ vắc xin.
  - KHÔNG dùng một bơm kim tiêm lấy vắc xin cho lọ đa liều.

- KHÔNG cắm bơm kim tiêm đã sử dụng vào lọ vắc xin nếu lọ đó tiếp tục được sử dụng cho cùng một người hoặc cho người khác.

- KHÔNG rút ngược pít tông trước khi bơm thuốc.

- KHÔNG rút sẵn vắc xin.

- KHÔNG dồn vắc xin còn thừa từ các lọ vắc xin đa liều để đủ liều tiêm.

#### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

##### 4.1. Các bước thực hiện

STT	Nội dung thực hiện	Mô tả
1	Tiếp đón khách hàng	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hỏi nhu cầu khách hàng</li> <li>- Thu thập thông tin khách hàng và nhập thông tin vào phần mềm tiêm chủng.</li> <li>- Thực hiện đo nhiệt độ, cân đo (nếu là trẻ em) và ghi vào sổ tiêm chủng</li> <li>- Phát số thứ tự và hướng dẫn chờ tới lượt vào phòng khám sàng lọc</li> </ul>
2	Tư vấn và khám sàng lọc trước tiêm	Khám sàng lọc theo quy trình “Tư vấn và khám sàng lọc trước tiêm chủng”
3	Thu tiền tiêm chủng	Theo quy trình thu tiền tại đơn vị
4	Thực hiện tiêm chủng kỹ thuật tiêm bắp	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Thực hiện 3 tra-5 đúng: 3 tra</b> (họ tên, năm sinh của khách hàng; Tên thuốc, Liều thuốc); <b>5 đúng</b> (Đúng người bệnh, Đúng thuốc, Đúng liều, Đúng đường dùng, Đúng thời gian)</li> <li>- Sát khuẩn tay bằng dung dịch sát khuẩn tay nhanh</li> <li>- Lấy vắc xin (theo chỉ định) từ dây chuyền lạnh (tủ lạnh/hòm lạnh/phích lạnh/...). Kiểm tra tính nguyên vẹn của vỏ hộp (nếu có),</li> <li>- Cho khách hàng/người thân thấy được nhãn hiệu của vắc xin đồng thời thông báo về: Tên vắc xin, liều lượng, nhà sản xuất, hạn dùng của vắc xin.</li> <li>- Tiêm vắc xin theo chỉ định của y/bác sỹ:  <ul style="list-style-type: none"> <li>+Lựa chọn vị trí tiêm bắp phù hợp theo tuổi (lưu ý chọn vùng da nguyên vẹn, không bị thương tổn): Đối với trẻ dưới 12 tháng tuổi tiêm các vắc xin đường tiêm bắp vào 1/3 giữa mặt trước ngoài đùi, đối với các trẻ từ 12 tháng các vắc xin này được tiêm bắp vào vùng cơ delta.</li> </ul> </li> </ul>



STT	Nội dung thực hiện	Mô tả
		<p>Các trẻ từ 1-2 tuổi nếu suy dinh dưỡng vẫn nên tiêm mũi. Thông báo cho khách hàng về vị trí được tiêm, hướng dẫn bộc lộ vị trí tiêm. Đối với trẻ nhỏ hướng dẫn người nhà giữ trẻ đúng tư thế trước khi tiêm</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>+ Sát khuẩn tay nhanh bằng dung dịch sát khuẩn tay nhanh ngay trước khi chuẩn bị vắc xin</li> <li>+ Quan sát xem vắc xin có phần tử lạ hay bất thường nào hay không. Biệt trừ vắc xin nếu có bất thường, lấy vắc xin khác thay thế</li> <li>+ Chuẩn bị BKT, đảm bảo kim tiêm gắn chắc vào bơm tiêm. Tiến hành pha hồi chính (nếu có), rút vắc xin vào bơm tiêm (nếu cần), đẩy khí dư.</li> <li>+ Sát trùng vị trí tiêm bằng miếng gạc tẩm cồn (dùng kẹp không dùng tay), sát trùng vùng tiêm theo hình xoắn ốc từ trong ra ngoài 1 khoảng đường kính 5cm, chờ đến khi khô cồn mới tiến hành tiêm</li> <li>+<i>Thực hiện tiêm kỹ thuật tiêm bắp</i>: căng da vùng tiêm, tay còn lại cầm BKT, đưa kim một góc 90 độ so với mặt da. Đẩy kim nhanh, sâu, bơm thuốc chậm. Đợi 10 giây để thuốc khuếch tán trong cơ. Rút kim nhanh, ấn gòn khô vào vị trí tiêm, dán băng keo cá nhân cố định gòn.</li> <li>-Thông báo cho khách hàng/người thân biết đã tiêm xong. Dẫn khách hàng ngồi theo dõi 30 phút theo dõi sau tiêm tại khu vực theo dõi sau tiêm. Về nhà theo dõi ít nhất 24 giờ, nếu cần hỗ trợ thì đến ngay cơ sở y tế gần nhất và thông báo với cơ sở tiêm chủng</li> <li>-<i>Xử lý vỏ lọ vắc xin và hùi BKT đã sử dụng</i>: Sau khi tiêm xong bỏ ngay BKT vào hộp an toàn. Phân loại và bỏ vỏ lọ vắc xin vào thùng rác thải y tế theo quy định. Thu dọn dụng cụ, xử lý rác thải khác theo quy định.</li> </ul>
5	Theo dõi và xử trí PUSTC	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Khách hàng ở lại khu vực theo dõi sau tiêm để theo dõi ít nhất 30 phút sau tiêm.</li> <li>- Khách hàng có thể ra về sau 30 phút nếu không có phản ứng</li> <li>- Xử lý các PUSTC nếu có xảy ra</li> </ul>
6	Nhập liệu và báo cáo	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nhập dữ liệu tiêm chủng</li> <li>- Thực hiện các báo cáo theo quy định</li> </ul>

## 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

## 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

4.3.1. Trả kết quả: không áp dụng

4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên hồ sơ
1	Phiếu (sổ) tiêm chủng
2	Bảng kiểm trước tiêm chủng với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện
3	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện
4	Bảng kiểm trước tiêm chủng đối với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện
5	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện
6	Báo cáo các trường hợp phản ứng thông thường sau tiêm chủng
7	Báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng

### 4.3.3. Hồ sơ

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu (sổ) tiêm chủng	Khách hàng Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	Lâu dài
2	Bảng kiểm trước tiêm chủng với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
3	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng ngoài	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày

	bệnh viện			
4	Bảng kiểm trước tiêm chủng đối với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
5	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
6	Báo cáo các trường hợp phản ứng thông thường sau tiêm chủng	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy	10 năm
7	Báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy	10 năm

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện tiêm

#### 5.1.1 Sai sót trong khám sàng lọc đối tượng tiêm chủng

##### a. Sai sót trong quá trình tư vấn tiêm chủng

- Không khai thác hết tiền sử dị ứng, tiền sử các phản ứng bất lợi sau tiêm chủng của các mũi tiêm trước, bỏ sót tiền sử bệnh nền, tiền sử dùng thuốc...

- Chỉ định không đúng mũi tiêm, lịch tiêm, độ tuổi tiêm...

- Không tư vấn kỹ cho người được tiêm chủng, người giám hộ nhận biết hết những phản ứng bất lợi sau tiêm, hướng dẫn xử trí ban đầu

**Xử trí và cách phòng tránh:** Cần tư vấn đầy đủ:

- Lợi ích và nguy cơ khi tiêm chủng vắc xin để có cách phòng tránh phù hợp

- Liệu trình tiêm vắc xin và ghi rõ các ngày hẹn tiêm vào lịch tiêm chủng

- Cung cấp các nguồn thông tin chính thống để người dân tham khảo

- Cung cấp số điện thoại đường dây nóng để giải đáp thắc mắc và tư vấn về biến cố bất lợi sau tiêm chủng.

##### b. Sai sót trong khám sàng lọc và chỉ định tiêm chủng

- Bỏ qua chống chỉ định, hoãn tiêm

- Chỉ định sai vắc xin/sai liều /sai độ tuổi tiêm chủng

- Chỉ định sai đối tượng



**Xử trí và cách phòng tránh:**

- Tuân thủ đúng quyết định khám sàng lọc của Bộ Y tế
- Tập huấn thường xuyên và nắm vững các lịch tiêm chủng
- Dán lịch hoặc khoảng cách các loại vắc xin lên tường gần chỗ ngồi
- Cần khai thác thông tin chính xác từ đối tượng tham gia tiêm chủng và sổ / phiếu tiêm chủng cá nhân

- Nắm vững các lịch tiêm bắt kịp “catch up” để chỉ định tiêm phù hợp

**5.1.2 Sai sót liên quan đến bảo quản vắc xin và dung môi**

- Vắc xin bị đông băng do phơi nhiễm với nhiệt độ thấp
- Vắc xin bị phơi nhiễm với nhiệt độ cao thường xuyên và lâu dài
- Vắc xin hết hạn sử dụng

**Xử trí và cách phòng tránh**

- Đọc nhiệt độ ít nhất 2 lần/ngày và ghi vào phiếu theo dõi nhiệt độ
- Sử dụng thiết bị theo dõi nhiệt độ điện tử và kiểm tra dữ liệu của thiết bị ít nhất 1 tuần/lần

- Kiểm tra hạn sử dụng hàng tuần và loại bỏ vắc xin khi hết hạn sử dụng
- Phân công một cán bộ quản lý vắc xin chính và một cán bộ dự phòng
- Chỉ sử dụng các thiết bị bảo quản vắc xin khi thiết bị đã được hiệu chuẩn và còn hạn sử dụng

- Có quy trình đáp ứng sự cố khẩn cấp, niêm phong/biệt trữ riêng các vắc xin đã phơi nhiễm với nhiệt độ ngoài khoảng quy định và thông báo cho đồng nghiệp, cán bộ quản lý

- Quan tâm vắc xin (như bệnh nhân ICU) khi nhiệt độ đến ngưỡng giới hạn cảnh báo ( $\leq 3^{\circ}\text{C}$  hoặc  $\geq 7^{\circ}\text{C}$ )

- Cần tăng tần suất theo dõi nhiệt độ: có thể theo dõi 1-2 tiếng/lần

- Đảm bảo theo dõi đủ, điều chỉnh nhiệt độ hợp lý đến khi nào nhiệt độ về lại khoảng  $(4-6)^{\circ}\text{C}$  và ổn định trong 1 khoảng thời gian thì mới nên quay lại chế độ theo dõi bình thường là 2 lần/ngày

- Độ đồng đều nhiệt trong quá trình bảo quản: cần thẩm định để đánh giá hàng năm
- Khuyến khích sử dụng thiết bị theo dõi có đầu dò được bảo quản trong dung dịch glycol nhằm giảm nhận định sai về nhiệt độ bảo quản

**5.1.3 Sai sót trong việc sử dụng dung môi hoặc vắc xin sau khi pha hồi chỉnh**

- Sử dụng không đúng dung môi: sai dung môi (khác loại, khác nhà sản xuất), đông băng dung môi, không bảo quản dung môi  $(2-8)^{\circ}\text{C}$  ít nhất 24 giờ trước khi sử dụng
- Sử dụng vắc xin đã pha hồi chỉnh không đúng

**Xử trí và cách phòng tránh:**

- Liệt kê các loại vắc xin/nhà sản xuất/thành phần vào sổ tay
- Chỉ sử dụng dung môi và vắc xin cùng loại và cùng nhà sản xuất (không thể thay thế cho nhau).
- Dán nhãn rõ ràng để phân biệt (khoanh tròn hoặc bôi màu thông tin trên nhãn) của dung môi nếu nhãn của nhà sản xuất có thể gây hiểu nhầm.
- Nên bảo quản, đóng gói và phân phối cùng nhau.
- Kiểm tra 3 lần tại 3 thời điểm khác nhau.
- Tập huấn thường xuyên để nhân viên hiểu rõ tầm quan trọng của việc thực hành đúng này

**5.1.4 Sử dụng vắc xin không đúng qui định:**

- Mở nhiều lọ vắc xin cùng lúc.
- Hút sẵn vắc xin vào BKT khi chưa tiêm, không được cài vắc xin vào miếng xốp.

**5.2. Trong quá trình thực hiện tiêm vắc xin**

- Tiêm nhầm thuốc
- Tiêm sai đường tiêm
- Tiêm sai liều tiêm
- Tiêm sai đối tượng
- Chạm tay vào những vị trí không được phép của bơm kim tiêm trước khi tiêm chủng cho đối tượng
- Tay hoặc vật không vô trùng ấn vào chỗ tiêm chảy máu
- Bơm kim tiêm đâm, chọc trúng cơ thể
- Sức khỏe cán bộ tham gia tiêm không đảm bảo

**Xử trí và cách phòng tránh:**

- Thực hiện 3 tra, 5 đúng
- Không bảo quản vắc xin chung với các loại thuốc khác
- Đánh dấu màu nhãn, mác theo lứa tuổi
- Bảo quản vắc xin ở các kệ, vị trí khác nhau trong trường hợp: Cùng 1 loại vắc xin nhưng hàm lượng khác nhau cho người lớn và trẻ em, có hình dạng giống nhau và tên gọi giống nhau
- Khi ghi chép thông tin tiêm chủng, chỉ sử dụng chữ viết tắt tiêu chuẩn (nếu có), không tự ghi tên viết tắt vắc xin theo ý mình (ví dụ ghi tên vắc xin 5 trong 1 thành vắc xin Hib, vắc xin DPT thành DTC...).
- Chữ viết cần rõ ràng, dễ đọc.
- Kiểm tra, đối chiếu đối tượng trước tiêm chủng



- Cán bộ tiêm phải được đào tạo và thành thạo các kỹ thuật tiêm

### **5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật**

Không hướng dẫn đối tượng tiêm chủng ở lại theo dõi sức khỏe ít nhất 30 phút và theo dõi tại nhà ít nhất 24 giờ

- Không hướng dẫn đối tượng nhận diện và xử lý ban đầu những dấu hiệu, triệu chứng bất thường có thể gặp sau tiêm chủng.
- Không nhận diện, phát hiện các trường hợp tai biến nặng sau tiêm chủng
- Phát hiện nhưng không ghi nhận báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng.

### **Xử trí và cách phòng tránh:**

- Tư vấn và hướng dẫn đầy đủ cho đối tượng sau tiêm
- Dặn dò và theo dõi đối tượng sau tiêm chủng đủ thời gian quy định
- Báo cáo phản ứng sau tiêm theo quy định

## **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

Không áp dụng

## **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Nghị định số 104/NĐ-CP của Thủ tướng Chính phủ ngày 01 tháng 07 năm 2016 về Hoạt động tiêm chủng;
- Nghị định số 13/2024/NĐ-CP của Chính phủ ngày 05 tháng 02 năm 2024 về sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định số 104/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 7 năm 2016 của Chính phủ quy định về hoạt động tiêm chủng;
- Thông tư số 34/2016/TT-BYT của Bộ Y Tế ngày 16 tháng 11 năm 2018 quy định chi tiết một số điều của Nghị định số 104/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 07 năm 2016 của Chính phủ quy định về Hoạt động tiêm chủng;
- Thông tư số 23/2011/TT-BYT ngày 10 tháng 6 năm 2011 của Bộ trưởng Bộ Y tế về hướng dẫn sử dụng thuốc trong các cơ sở y tế có giường bệnh;
- Thông tư số 51/2017/TT-BYT ngày 29 tháng 12 năm 2017 về Hướng dẫn phòng, chẩn đoán và xử trí phân vệ;
- Quyết định 1622/QĐ-BYT ban hành ngày 08 tháng 05 năm 2014 về phê duyệt “hướng dẫn giám sát, phòng chống bệnh dại trên người”
- Quyết định số: 1575/QĐ-BYT của Bộ Y Tế ngày 27 tháng 03 năm 2023, về việc ban hành Hướng dẫn khám sàng lọc trước tiêm chủng đối với trẻ em;
- Bộ Y Tế (2012). Hướng dẫn thực hành 55 kỹ thuật điều dưỡng cơ bản tập 1,2. Nhà xuất bản Giáo Dục Việt Nam;
- Đoàn Thị Anh Lê (2014). Kỹ thuật điều dưỡng cơ sở dựa trên chuẩn năng lực. Nhà xuất bản y học;
- Các hướng dẫn sử dụng vắc-xin.



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 312:**  
**TIÊM VẮC XIN DỊCH VỤ THEO ĐƯỜNG TIÊM DƯỚI DA**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

- Hướng dẫn thực hiện đúng các trình tự tiêm vắc xin theo đường tiêm dưới da.
- Tiêm đúng vắc xin, đúng đối tượng.

### **1.2. Định nghĩa**

#### 1.2.1. Giải thích từ ngữ

- **Khách hàng:** người có nhu cầu tiêm chủng/người được tiêm chủng
- **Người thân của khách hàng:** Là ông/bà/cha/mẹ hoặc người giám hộ hợp pháp đưa trẻ đi tiêm chủng
- **Sai sót liên quan đến thực hành tiêm chủng:** là sai sót gây ra do việc sử dụng vắc xin sai và gây ra các biến cố bất lợi tới đối tượng tiêm chủng. Đó có thể là những sai sót liên quan đến thực hành chuyên môn, vật tư tiêm chủng, quá trình bảo quản, pha hồi chỉnh, tiêm chủng và theo dõi biến cố bất lợi sau tiêm chủng.

#### 1.2.2 Từ viết tắt

- BKT: Bơm kim tiêm
- KTV: Kỹ thuật viên
- PUSTC: phản ứng sau tiêm chủng
- VPP: Văn phòng phẩm

### **1.3. Nguyên lý**

Tiêm chủng cần thực hiện đầy đủ theo các bước:

- Trước tiêm chủng: Khám sàng lọc, tư vấn cho đối tượng tiêm chủng. Trường hợp đối tượng tiêm chủng là trẻ em thì việc tư vấn thực hiện với cha, mẹ hoặc người giám hộ của trẻ;
- Trong khi tiêm chủng: thực hiện tiêm chủng theo đúng chỉ định, bảo đảm an toàn;
- Sau khi tiêm chủng: Theo dõi người được tiêm chủng ít nhất 30 phút sau tiêm chủng và hướng dẫn gia đình hoặc đối tượng tiêm chủng để tiếp tục theo dõi ít nhất 24 giờ sau tiêm chủng.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Y sĩ trình độ từ trung cấp trở lên/Bác sĩ trình độ từ đại học trở lên: 01 người
- Điều dưỡng trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người
- Nhân viên tiếp nhận trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người
- Tiếp nhận, phân phối và bảo quản vắc xin trình độ từ trung cấp trở lên: 02 người

- Nhân sự nghe điện thoại đường dây nóng trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người

## 2.2. Vật tư

### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Vắc xin phòng bệnh loại tiêm dưới da
- Adrenalin 1mg/1 mL/ống
- Methylprednisolon 40mg/lọ
- Diphenhydramin 10mg/ống
- Nước cất 10 mL/ống
- Dung dịch Sodium clorid 0,9%
- Nước tẩy quần áo
- Cồn 70 %/dung dịch khử trùng nhanh
- Viên nén dùng cho khử nhiễm
- Nước sát khuẩn tay
- Bột giặt
- Chloramin B (lau sàn khu phòng khám)

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Trang phục chuyên môn, khẩu trang
- Găng tay các loại
- Bơm kim tiêm các loại: loại 1mL, 3mL; kim tiêm dành cho tiêm dưới da 23G-25G, độ dài kim từ 2,5-3,5 cm. Số lượng: 01 cây.
- Bông gòn khô vô trùng, gạc tẩm cồn loại đóng gói sẵn, cồn 70 độ, băng keo cá nhân và bộ dụng cụ tiêm chủng (pen, kéo, kẹp, hộp đựng dụng cụ).
- Văn phòng phẩm: bút, giấy, mực in, kẹp, ghim...
- Hộp an toàn, thùng đựng rác, túi hoặc hộp đựng vỏ vắc xin.
- Thùng nhựa
- Chậu nhựa
- Nước sát khuẩn.

## 2.3. Thiết bị

### 2.3.1 Trang thiết bị chung

- Ống nghe, nhiệt kế, đũa lược, máy đo huyết áp, dụng cụ cân đo trẻ em, đèn soi ...
- Tủ lạnh, hòm lạnh, phích lạnh phục vụ bảo quản huyết thanh
- Kho lạnh bảo quản vắc xin, máy phát điện dự phòng
- Máy tính, máy in, máy photo, máy scan ...

– Phần mềm quản lý tiêm chủng, phần mềm thu phí, ...

### 2.3.2 Trang thiết bị y tế và thuốc tối thiểu cấp cứu phản vệ

- Bình Oxy
- Bóng AMBU và mặt nạ người lớn và trẻ nhỏ
- Bơm xịt salbutamol
- Các thuốc chống dị ứng đường uống
- Dịch truyền: natriclorid 0,9%.

### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện tiêm chủng vắc-xin:

- Đối tượng được tiêm phải được khám sàng lọc và đã có chỉ định tiêm, có sổ/phiếu đã có chỉ định của bác sĩ.

### 2.5. Phiếu/sổ tiêm chủng

- Sổ tiêm chủng/ phiếu chỉ định tiêm chủng.
- Kiểm tra phiếu/ sổ chỉ định tiêm chủng: đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên đối tượng tiêm chủng, giới tính, ngày tháng năm sinh, địa chỉ, điện thoại, loại vắc xin cần tiêm ...

### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật tiêm

4-5 phút/1 kỹ thuật tiêm

### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Thực hiện tiêm chủng tại phòng tiêm chủng của đơn vị tiêm chủng

## 3. AN TOÀN

- Thực hiện tiêm chủng an toàn trong và sau buổi tiêm chủng
- Chỉ tiếp nhận và tiêm cho khách hàng có chỉ định tiêm chủng hợp lệ (đã được khám sàng lọc và có chỉ định của bác sĩ/y sĩ)
  - Luôn tuân thủ đường tiêm theo đúng chỉ định của nhà sản xuất vắc xin
  - Luôn kiểm tra sự đầy đủ của hộp thuốc chống sốc trước mỗi buổi tiêm chủng
  - Mỗi bàn tiêm chỉ tiếp nhận 01 người mỗi lần. Chỉ tiêm cho trẻ khi có mặt của người thân
  - Nếu tiêm nhiều loại vắc xin cho một đối tượng trong cùng một buổi tiêm: ưu tiên tiêm ở các vị trí cách xa nhau (hai bên tay, hai bên đùi). Trong trường hợp không thể áp dụng tiêm ở các vị trí xa nhau, khoảng cách hai vị trí tiêm  $\geq 2,54$ cm (01inch)
  - Nếu trong một buổi tiêm có nhiều mũi vắc xin được chỉ định, ưu tiên vắc xin uống trước (nếu có), tiêm mũi tiêm ít đau trước.
  - KHÔNG được chạm kim tiêm vào bất cứ bề mặt nào đã nhiễm bẩn.
  - KHÔNG được cầm nắm, dụng chạm tay vào pít tông, đầu ăn bu, thân kim tiêm trong quá trình chuẩn bị vắc xin.






- KHÔNG được sử dụng lại bơm tiêm kể cả khi đã thay kim tiêm.
- KHÔNG đụng chạm vào nắp cao su của lọ vắc xin.
- KHÔNG dùng một bơm kim tiêm lấy vắc xin cho lọ đa liều.
- KHÔNG cắm bơm kim tiêm đã sử dụng vào lọ vắc xin nếu lọ đó tiếp tục được sử dụng cho cùng một người hoặc cho người khác.
- KHÔNG rút ngược pít tông trước khi bơm thuốc.
- KHÔNG rút sẵn vắc xin.
- KHÔNG dồn vắc xin còn thừa từ các lọ vắc xin đa liều để đủ liều tiêm

#### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

##### 4.1. Các bước thực hiện

STT	Nội dung thực hiện	Mô tả
1	Tiếp đón khách hàng	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Hỏi nhu cầu khách hàng</li> <li>- Thu thập thông tin khách hàng và nhập thông tin vào phần mềm tiêm chủng.</li> <li>- Thực hiện đo nhiệt độ, cân đo (nếu là trẻ em) và ghi vào sổ tiêm chủng</li> <li>- Phát số thứ tự và hướng dẫn chờ tới lượt vào phòng khám sàng lọc</li> </ul>
2	Tư vấn và khám sàng lọc trước tiêm	Khám sàng lọc theo quy trình “Tư vấn và khám sàng lọc trước tiêm chủng”
3	Thu tiền tiêm chủng	Theo quy trình thu tiền tại đơn vị
4	Thực hiện tiêm chủng kỹ thuật tiêm dưới da	<ul style="list-style-type: none"> <li>-<b>Thực hiện 3 tra-5 đúng: 3 tra</b> (họ tên, năm sinh của khách hàng; Tên thuốc, Liều thuốc); <b>5 đúng</b> (Đúng người bệnh, Đúng thuốc, Đúng liều, Đúng đường dùng, Đúng thời gian)</li> <li>-Sát khuẩn tay bằng dung dịch sát khuẩn tay nhanh</li> <li>- Lấy vắc xin (theo chỉ định) từ dây chuyền lạnh (tủ lạnh/hòm lạnh/phích lạnh/...). Kiểm tra tính nguyên vẹn của vỏ hộp (nếu có),</li> <li>- Cho khách hàng/người thân thấy được nhãn hiệu của vắc xin đồng thời thông báo về: Tên vắc xin, liều lượng, nhà sản xuất, hạn dùng của vắc xin.</li> <li>- Tiêm vắc xin theo chỉ định của y/bác sỹ:</li> </ul>

STT	Nội dung thực hiện	Mô tả
		<p>+Lựa chọn vị trí tiêm dưới da phù hợp theo tuổi: Đối với trẻ dưới 12 tháng tuổi tiêm các vắc xin vào 1/3 giữa mặt trước ngoài đùi, đối với các trẻ từ 12 tháng các vắc xin vào vùng cơ delta, tránh các vị trí có tổn thương bị bầm tím, mềm, cứng hoặc sưng tấy...Thông báo cho khách hàng về vị trí được tiêm, hướng dẫn bọc lộ vị trí tiêm. Đối với trẻ nhỏ hướng dẫn người nhà giữ trẻ đúng tư thế trước khi tiêm</p> <p>+ Sát khuẩn tay nhanh bằng dung dịch sát khuẩn tay nhanh ngay trước khi chuẩn bị vắc xin</p> <p>+ Quan sát xem vắc xin có phần tử lạ hay bất thường nào hay không. Biệt trừ vắc xin nếu có bất thường, lấy vắc xin khác thay thế</p> <p>+ Chuẩn bị BKT, đảm bảo kim tiêm gắn chắc vào bơm tiêm. Tiến hành pha hồi chính (nếu có), rút vắc xin vào bơm tiêm (nếu cần), đẩy khí dư.</p> <p>+ Sát trùng vị trí tiêm bằng miếng gạc tẩm cồn (dùng kẹp không dùng tay), sát trùng vùng tiêm theo hình xoắn ốc từ trong ra ngoài 1 khoảng đường kính 5cm, chờ đến khi khô cồn mới tiến hành tiêm</p> <p>+ <i>Thực hiện tiêm kỹ thuật tiêm dưới da:</i> Dùng tay không thuận véo vùng da cần tiêm bằng ngón tay cái và ngón tay trỏ. Giữ ống tiêm bằng tay thuận giữa ngón cái và ngón trỏ, đâm kim nhanh góc 30-45 độ. Sau khi kim đã vào đúng vị trí, di chuyển bàn tay không thuận khỏi mô giữ và hạ đầu kim. Dùng tay thuận tiêm thuốc chậm, tránh di chuyển ống tiêm. Khi tiêm hết vắc xin, rút kim ra nhanh theo hướng đâm kim vào, ấn gòn khô vào vị trí tiêm khoảng 30 giây, có thể dán băng keo. Ký xác nhận dẫn tiêm vào sổ tiêm chủng.</p> <p>-Thông báo cho khách hàng/người thân biết đã tiêm xong. Dẫn khách hàng ngồi theo dõi 30 phút theo dõi sau tiêm tại khu vực theo dõi sau tiêm. Về nhà theo dõi ít nhất 24 giờ, nếu cần hỗ trợ thì đến ngay cơ sở y tế gần nhất và thông báo với cơ sở tiêm chủng.</p> <p>-<i>Xử lý vỏ lọ vắc xin và hủy BKT đã sử dụng:</i> Sau khi tiêm xong bỏ ngay BKT vào hộp an toàn. Phân loại và bỏ vỏ lọ vắc xin vào thùng rác thải y tế theo quy định. Thu dọn dụng cụ, xử lý rác thải khác theo quy định.</p>
5	Theo dõi và xử trí PUSTC	- Khách hàng ở lại khu vực theo dõi sau tiêm để theo dõi ít nhất 30 phút sau tiêm.

STT	Nội dung thực hiện	Mô tả
		- Khách hàng có thể ra về sau 30 phút nếu không có phản ứng - Xử lý các PUSTC nếu có xảy ra
6	Nhập liệu và báo cáo	- Nhập dữ liệu tiêm chủng - Thực hiện các báo cáo theo quy định

#### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng.

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

4.3.1. Trả kết quả: không áp dụng

4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu (sổ) tiêm chủng
2	Bảng kiểm trước tiêm chủng với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện
3	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện
4	Bảng kiểm trước tiêm chủng đối với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện
5	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện
6	Báo cáo các trường hợp phản ứng thông thường sau tiêm chủng
7	Báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng

4.3.3. Hồ sơ

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu (sổ) tiêm chủng	Khách hàng Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	Lâu dài



STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
2	Bảng kiểm trước tiêm chủng với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
3	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
4	Bảng kiểm trước tiêm chủng đối với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
5	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
6	Báo cáo các trường hợp phản ứng thông thường sau tiêm chủng	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy	10 năm
7	Báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy	10 năm

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện tiêm

#### 5.1.5 Sai sót trong khám sàng lọc đối tượng tiêm chủng

##### c. Sai sót trong quá trình tư vấn tiêm chủng

- Không khai thác hết tiền sử dị ứng, tiền sử các phản ứng bất lợi sau tiêm chủng của các mũi tiêm trước, bỏ sót tiền sử bệnh nền, tiền sử dùng thuốc...

- Chi định không đúng mũi tiêm, lịch tiêm, độ tuổi tiêm...

- Không tư vấn kỹ cho người được tiêm chủng, người giám hộ nhận biết hết những

phản ứng bất lợi sau tiêm, hướng dẫn xử trí ban đầu

**Xử trí và cách phòng tránh:** Cần tư vấn đầy đủ:

- Lợi ích và nguy cơ khi tiêm chủng vắc xin để có cách phòng tránh phù hợp
- Liệu trình tiêm vắc xin và ghi rõ các ngày hẹn tiêm vào lịch tiêm chủng
- Cung cấp các nguồn thông tin chính thống để người dân tham khảo
- Cung cấp số điện thoại đường dây nóng để giải đáp thắc mắc và tư vấn về biến cố bất lợi sau tiêm chủng.

*d. Sai sót trong khám sàng lọc và chỉ định tiêm chủng*

- Bỏ qua chống chỉ định, hoãn tiêm
- Chỉ định sai vắc xin/sai liều /sai độ tuổi tiêm chủng
- Chỉ định sai đối tượng

**Xử trí và cách phòng tránh:**

- Tuân thủ đúng quyết định khám sàng lọc của Bộ Y tế
- Tập huấn thường xuyên và nắm vững các lịch tiêm chủng
- Dán lịch hoặc khoảng cách các loại vắc xin lên tường gần chỗ ngồi
- Cần khai thác thông tin chính xác từ đối tượng tham gia tiêm chủng và sổ / phiếu tiêm chủng cá nhân
- Nắm vững các lịch tiêm bắt kịp “catch up” để chỉ định tiêm phù hợp

5.1.6 Sai sót liên quan đến bảo quản vắc xin và dung môi

- Vắc xin bị đông băng do phơi nhiễm với nhiệt độ thấp
- Vắc xin bị phơi nhiễm với nhiệt độ cao thường xuyên và lâu dài
- Vắc xin hết hạn sử dụng

**Xử trí và cách phòng tránh**

- Đọc nhiệt độ ít nhất 2 lần/ngày và ghi vào phiếu theo dõi nhiệt độ
- Sử dụng thiết bị theo dõi nhiệt độ điện tử và kiểm tra dữ liệu của thiết bị ít nhất 1 tuần/lần
- Kiểm tra hạn sử dụng hàng tuần và loại bỏ vắc xin khi hết hạn sử dụng
- Phân công một cán bộ quản lý vắc xin chính và một cán bộ dự phòng
- Chỉ sử dụng các thiết bị bảo quản vắc xin khi thiết bị đã được hiệu chuẩn và còn hạn sử dụng
- Có quy trình đáp ứng sự cố khẩn cấp, niêm phong/biệt trừ riêng các vắc xin đã phơi nhiễm với nhiệt độ ngoài khoảng quy định và thông báo cho đồng nghiệp, cán bộ quản lý
- Quan tâm vắc xin (như bệnh nhân ICU) khi nhiệt độ đến ngưỡng giới hạn cảnh báo ( $\leq 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  hoặc  $\geq 7\text{ }^{\circ}\text{C}$ )

- Cần tăng tần suất theo dõi nhiệt độ: có thể theo dõi 1-2 tiếng/lần
- Đảm bảo theo dõi đủ, điều chỉnh nhiệt độ hợp lý đến khi nào nhiệt độ về lại khoảng (4-6) °C và ổn định trong 1 khoảng thời gian thì mới nên quay lại chế độ theo dõi bình thường là 2 lần/ngày
- Độ đồng đều nhiệt trong quá trình bảo quản: cần thăm định để đánh giá hàng năm
- Khuyến khích sử dụng thiết bị theo dõi có đầu dò được bảo quản trong dung dịch glycol nhằm giảm nhận định sai về nhiệt độ bảo quản

#### 5.1.7 Sai sót trong việc sử dụng dung môi hoặc vắc xin sau khi pha hồi chính

- Sử dụng không đúng dung môi: sai dung môi (khác loại, khác nhà sản xuất), đông băng dung môi, không bảo quản dung môi từ (2-8) °C ít nhất 24 giờ trước khi sử dụng

- Sử dụng vắc xin đã pha hồi chính không đúng

#### **Xử trí và cách phòng tránh:**

- Liệt kê các loại vắc xin/nhà sản xuất/thành phần vào sổ tay
- Chỉ sử dụng dung môi và vắc xin cùng loại và cùng nhà sản xuất (không thể thay thế cho nhau).

- Dán nhãn rõ ràng để phân biệt (khoanh tròn hoặc bôi màu thông tin trên nhãn) của dung môi nếu nhãn của nhà sản xuất có thể gây hiểu nhầm.

- Nên bảo quản, đóng gói và phân phối cùng nhau.
- Kiểm tra 3 lần tại 3 thời điểm khác nhau.
- Tập huấn thường xuyên để nhân viên hiểu rõ tầm quan trọng của việc thực hành đúng này

#### 5.1.8 Sử dụng vắc xin không đúng qui định:

- Mở nhiều lọ vắc xin cùng lúc.
- Hút sẵn vắc xin vào BKT khi chưa tiêm, không được cài vắc xin vào miếng xốp.

#### **5.2. Trong quá trình thực hiện tiêm vắc xin**

- Tiêm nhầm thuốc
- Tiêm sai đường tiêm
- Tiêm sai liều tiêm
- Tiêm sai đối tượng
- Chạm tay vào những vị trí không được phép của bơm kim tiêm trước khi tiêm chủng cho đối tượng
- Tay hoặc vật không vô trùng ấn vào chỗ tiêm chảy máu
- Bơm kim tiêm đâm, chọc trúng cơ thể
- Sức khỏe cán bộ tham gia tiêm không đảm bảo



**Xử trí và cách phòng tránh:**

- Thực hiện 3 tra, 5 đúng
- Không bảo quản vắc xin chung với các loại thuốc khác
- Đánh dấu màu nhãn, mác theo lứa tuổi
- Bảo quản vắc xin ở các kệ, vị trí khác nhau trong trường hợp: Cùng 1 loại vắc xin nhưng hàm lượng khác nhau cho người lớn và trẻ em, có hình dạng giống nhau và tên gọi giống nhau
- Khi ghi chép thông tin tiêm chủng, chỉ sử dụng chữ viết tắt tiêu chuẩn (nếu có), không tự ghi tên viết tắt vắc xin theo ý mình (ví dụ ghi tên vắc xin 5 trong 1 thành vắc xin Hib, vắc xin DPT thành DTC...).
- Chữ viết cần rõ ràng, dễ đọc.
- Kiểm tra, đối chiếu đối tượng trước tiêm chủng
- Cán bộ tiêm phải được đào tạo và thành thạo các kỹ thuật tiêm

**5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật**

Không hướng dẫn đối tượng tiêm chủng ở lại theo dõi sức khỏe ít nhất 30 phút và theo dõi tại nhà ít nhất 24 giờ

- Không hướng dẫn đối tượng nhận diện và xử lý ban đầu những dấu hiệu, triệu chứng bất thường có thể gặp sau tiêm chủng.
- Không nhận diện, phát hiện các trường hợp tai biến nặng sau tiêm chủng
- Phát hiện nhưng không ghi nhận báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng.

**Xử trí và cách phòng tránh:**

- Tư vấn và hướng dẫn đầy đủ cho đối tượng sau tiêm
- Dẫn dò và theo dõi đối tượng sau tiêm chủng đủ thời gian quy định
- Báo cáo phản ứng sau tiêm theo quy định

**6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

Không áp dụng

**7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Nghị định số 104/NĐ-CP của Thủ tướng Chính phủ ngày 01 tháng 07 năm 2016 về Hoạt động tiêm chủng;
- Nghị định số 13/2024/NĐ-CP của Chính phủ ngày 05 tháng 02 năm 2024 về sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định số 104/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 7 năm 2016 của Chính phủ quy định về hoạt động tiêm chủng;
- Thông tư số 34/2016/TT-BYT của Bộ Y Tế ngày 16 tháng 11 năm 2018 quy định chi tiết một số điều của Nghị định số 104/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 07 năm 2016 của Chính phủ quy định về Hoạt động tiêm chủng;

- Thông tư số 23/2011/TT-BYT ngày 10 tháng 6 năm 2011 của Bộ trưởng Bộ Y tế về hướng dẫn sử dụng thuốc trong các cơ sở y tế có giường bệnh;
- Thông tư số 51/2017/TT-BYT ngày 29 tháng 12 năm 2017 về Hướng dẫn phòng, chẩn đoán và xử trí phản vệ;
- Quyết định 1622/QĐ-BYT ban hành ngày 08 tháng 05 năm 2014 về phê duyệt “hướng dẫn giám sát, phòng chống bệnh dại trên người”
- Quyết định số: 1575/QĐ-BYT của Bộ Y Tế ngày 27 tháng 03 năm 2023, về việc ban hành Hướng dẫn khám sàng lọc trước tiêm chủng đối với trẻ em;
- Bộ Y Tế (2012). Hướng dẫn thực hành 55 kỹ thuật điều dưỡng cơ bản tập 1,2. Nhà xuất bản Giáo Dục Việt Nam;
- Đoàn Thị Anh Lê (2014). Kỹ thuật điều dưỡng cơ sở dựa trên chuẩn năng lực. Nhà xuất bản y học;
- Các hướng dẫn sử dụng vắc-xin.



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 313:  
TIÊM VẮC XIN DỊCH VỤ ĐƯỜNG TIÊM TRONG DA**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

- Hướng dẫn thực hiện đúng các trình tự tiêm vắc xin theo đường tiêm trong da
- Tiêm đúng vắc xin, đúng đối tượng

### **1.2. Định nghĩa**

#### 1.2.1. Giải thích từ ngữ

- **Khách hàng:** người có nhu cầu tiêm chủng/người được tiêm chủng
- **Người thân của khách hàng:** Là ông/bà/cha/mẹ hoặc người giáp hộ hợp pháp đưa trẻ đi tiêm chủng

- **Sai sót liên quan đến thực hành tiêm chủng** là sai sót gây ra do việc sử dụng vắc xin sai và gây ra các biến cố bất lợi tới đối tượng tiêm chủng. Đó có thể là những sai sót liên quan đến thực hành chuyên môn, vật tư tiêm chủng (lọ vắc xin, BKT...), quá trình bảo quản, pha hồi chính, tiêm chủng và theo dõi biến cố bất lợi sau tiêm chủng

#### 1.2.2 Từ viết tắt

- BKT: Bơm kim tiêm
- KTV: Kỹ thuật viên
- PUSTC: phản ứng sau tiêm chủng
- VPP: Văn phòng phẩm

### **1.3. Nguyên lý**

Tiêm chủng cần thực hiện đầy đủ theo các bước:

- Trước tiêm chủng: Khám sàng lọc, tư vấn cho đối tượng tiêm chủng. Trường hợp đối tượng tiêm chủng là trẻ em thì việc tư vấn thực hiện với cha, mẹ hoặc người giám hộ của trẻ;

- Trong khi tiêm chủng: thực hiện tiêm chủng theo đúng chỉ định, bảo đảm an toàn;

- Sau khi tiêm chủng: Theo dõi người được tiêm chủng ít nhất 30 phút sau tiêm chủng và hướng dẫn gia đình hoặc đối tượng tiêm chủng để tiếp tục theo dõi ít nhất 24 giờ sau tiêm chủng.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Y sĩ trình độ từ trung cấp trở lên/Bác sĩ trình độ từ đại học trở lên: 01 người
- Điều dưỡng trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người
- Nhân viên tiếp nhận trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người
- Tiếp nhận, phân phối và bảo quản vắc xin trình độ từ trung cấp trở lên: 02 người



- Nhân sự nghe điện thoại đường dây nóng trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người

## 2.2. Vật tư

### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Vắc xin phòng bệnh loại tiêm trong da
- Adrenalin 1mg/1 mL/ống
- Methylprednisolon 40mg/lọ
- Diphenhydramin 10mg/ống
- Nước cất 10 mL/ống
- Dung dịch Sodium clorid 0,9%
- Nước tẩy quần áo
- Cồn 70 %/dung dịch khử trùng nhanh
- Viên nén dùng cho khử nhiễm
- Nước sát khuẩn tay
- Bột giặt
- Chloramin B (lau sàn khu phòng khám)

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Trang phục chuyên môn, khẩu trang
- Bơm kim tiêm các loại: loại 1mL; kim tiêm 26- 27G, độ dài kim từ 0,6-1,3cm.
- Bông gòn khô vô trùng, gạc tẩm cồn loại đóng gói sẵn, cồn 70 độ, băng keo cá nhân và bộ dụng cụ tiêm chủng (pen, kéo, kẹp, hộp đựng dụng cụ).
- Hộp an toàn, thùng đựng rác, túi hoặc hộp đựng vỏ vắc xin.
- Băng dính cá nhân
- Thùng nhựa
- Chậu nhựa
- Nước sát khuẩn.
- VPP: bút, giấy, đồ bấm giấy, ghim bấm, kẹp giấy, kéo...

## 2.3. Thiết bị

### 2.3.1 Trang thiết bị chung

- Ống nghe, nhiệt kế, dè lưỡi, máy đo huyết áp, dụng cụ cân đo trẻ em, đèn soi ...
- Tủ lạnh, hòm lạnh, phích lạnh phục vụ bảo quản huyết thanh
- Kho lạnh bảo quản vắc xin, máy phát điện dự phòng
- Máy tính, máy in, máy photo, máy scan ...
- Phần mềm quản lý tiêm chủng, phần mềm thu phí, ...

### 2.3.2 Trang thiết bị y tế và thuốc tối thiểu cấp cứu phần vệ

- Bình Oxy
- Bóng AMBU và mặt nạ người lớn và trẻ nhỏ
- Bơm xịt salbutamol
- Các thuốc chống dị ứng đường uống
- Dịch truyền: natriclorid 0,9%

#### **2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện tiêm chủng vắc xin**

Đối tượng được tiêm phải được khám sàng lọc và đã có chỉ định tiêm, có sổ/phiếu đã có chỉ định của bác sĩ/y sĩ.

#### **2.5. Phiếu/sổ tiêm chủng**

- Sổ tiêm chủng/phiếu chỉ định tiêm chủng (phụ lục).
- Kiểm tra phiếu/ sổ chỉ định tiêm chủng: đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên đối tượng tiêm chủng, giới tính, ngày tháng năm sinh, địa chỉ, điện thoại, loại vắc xin cần tiêm ...

#### **2.6. Thời gian thực hiện**

4-5 phút/1 mũi tiêm

#### **2.7. Địa điểm thực hiện**

Thực hiện tiêm chủng tại phòng tiêm chủng của đơn vị tiêm chủng

### **3. AN TOÀN**

- Thực hiện tiêm chủng an toàn trong và sau buổi tiêm chủng
- Chỉ tiếp nhận và tiêm cho khách hàng có chỉ định tiêm chủng hợp lệ (đã được khám sàng lọc và có chỉ định của bác sĩ/y sĩ)
- Luôn tuân thủ đường tiêm theo đúng chỉ định của nhà sản xuất vắc xin
- Luôn kiểm tra sự đầy đủ của hộp thuốc chống sốc trước mỗi buổi tiêm chủng
- Mỗi bàn tiêm chỉ tiếp nhận 01 người mỗi lần. Chỉ tiêm cho trẻ khi có mặt của người thân
- Nếu tiêm nhiều loại vắc xin cho một đối tượng trong cùng một buổi tiêm: ưu tiên tiêm ở các vị trí cách xa nhau (hai bên tay, hai bên đùi). Trong trường hợp không thể áp dụng tiêm ở các vị trí xa nhau, khoảng cách hai vị trí tiêm  $\geq 2,54\text{cm}$  (01inch)
- Nếu trong một buổi tiêm có nhiều mũi vắc xin được chỉ định, ưu tiên vắc xin uống trước (nếu có), tiêm mũi tiêm ít đau trước.
- KHÔNG được chạm kim tiêm vào bất cứ bề mặt nào đã nhiễm bẩn.
- KHÔNG được cầm nắm, đụng chạm tay vào pít tông, đầu ăm bu, thân kim tiêm trong quá trình chuẩn bị vắc xin.
- KHÔNG được sử dụng lại bơm tiêm kể cả khi đã thay kim tiêm.
- KHÔNG đụng chạm vào nắp cao su của lọ vắc xin.
- KHÔNG dùng một bơm kim tiêm lấy vắc xin cho lọ đa liều.

- KHÔNG cấm bơm kim tiêm đã sử dụng vào lọ vắc xin nếu lọ đó tiếp tục được sử dụng cho cùng một người hoặc cho người khác.

- KHÔNG rút ngược pít tông trước khi bơm thuốc.

- KHÔNG rút sẵn vắc xin.

- KHÔNG đôn vắc xin còn thừa từ các lọ vắc xin đa liều để đủ liều tiêm.

#### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

##### 4.1. Các bước thực hiện

ST T	Nội dung thực hiện	Mô tả
1	Tiếp đón khách hàng	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Hỏi nhu cầu khách hàng</li> <li>- Thu thập thông tin khách hàng và nhập thông tin vào phần mềm tiêm chủng.</li> <li>- Thực hiện đo nhiệt độ, cân đo (nếu là trẻ em) và ghi vào sổ tiêm chủng</li> <li>- Phát số thứ tự và hướng dẫn chờ tới lượt vào phòng khám sàng lọc</li> </ul>
2	Tư vấn và khám sàng lọc trước tiêm	Khám sàng lọc theo quy trình “Tư vấn và khám sàng lọc trước tiêm chủng”
3	Thu tiền tiêm chủng	Theo quy trình thu tiền tại đơn vị
4	Thực hiện tiêm chủng kỹ thuật tiêm trong da	<ul style="list-style-type: none"> <li>-<b>Thực hiện 3 tra-5 đúng: 3 tra</b> (họ tên, năm sinh của khách hàng; tên thuốc, liều thuốc); <b>5 đúng</b> (Đúng người bệnh, Đúng thuốc, Đúng liều, Đúng đường dùng, Đúng thời gian)</li> <li>-Sát khuẩn tay bằng dung dịch sát khuẩn tay nhanh</li> <li>- Lấy vắc xin (theo chỉ định) từ dây chuyền lạnh (tủ lạnh/hòm lạnh/phích lạnh/...). Kiểm tra tính nguyên vẹn của vỏ hộp (nếu có)</li> <li>- Cho khách hàng/người thân thấy được nhãn hiệu của vắc xin đồng thời thông báo về: Tên vắc xin, liều lượng, nhà sản xuất, hạn dùng của vắc xin.</li> <li>- Tiêm vắc xin theo chỉ định của y/bác sỹ:</li> <li>+ Lựa chọn vị trí tiêm trong da phù hợp: da vùng trên cơ delta, mặt trước cẳng tay, mặt trước bên đùi. Chọn vị trí tiêm không có tổn thương, phát ban, nốt ruồi hoặc sẹo. Thông báo cho khách hàng về vị trí được tiêm, hướng dẫn bọc lộ vị trí tiêm. Đối với trẻ nhỏ hướng dẫn người nhà giữ trẻ đúng tư thế trước khi tiêm</li> <li>+Sát khuẩn tay nhanh bằng dung dịch sát khuẩn tay</li> </ul>

*Handwritten signatures and initials in blue ink.*



ST T	Nội dung thực hiện	Mô tả
		<p>nhanh ngay trước khi chuẩn bị vắc xin</p> <p>+ Quan sát xem vắc xin có phần tử lạ hay bất thường nào hay không. Biệt trừ vắc xin nếu có bất thường, lấy vắc xin khác thay thế.</p> <p>+ Chuẩn bị BKT, đảm bảo kim tiêm gắn chắc vào bơm tiêm. Tiến hành pha hồi chỉnh (nếu có), rút vắc xin vào bơm tiêm (nếu cần), đẩy khí dư.</p> <p>+ Sát trùng vị trí tiêm bằng miếng gạc tẩm cồn (dùng kẹp không dùng tay), sát trùng vùng tiêm theo hình xoắn ốc từ trong ra ngoài 1 khoảng đường kính 5cm, chờ đến khi khô cồn mới tiến hành tiêm.</p> <p>+<i>Thực hiện tiêm kỹ thuật tiêm trong da:</i> Dùng tay không thuận, căng da chỗ tiêm. Tay thuận cầm BKT giữa ngón cái và ngón trỏ, hướng mặt vát mũi kim lên trên, tạo góc với mặt da từ 5- 15 độ, đặt kim gần như phẳng trên da bệnh nhân, đâm kim vào da, đẩy kim khoảng 0,5cm hết đầu vát vào trong da, bơm 0,1mL thuốc chậm, tại vị trí tiêm sẽ nổi phồng lên. Rút kim nhanh theo hướng kim đâm vào. Dẫn dò bệnh nhân không được chạm vào vị trí tiêm. Ký xác nhận đã tiêm vào sổ tiêm chủng.</p> <p>-Thông báo cho khách hàng/người thân biết đã tiêm xong. Dẫn khách hàng ngồi theo dõi 30 phút theo dõi sau tiêm tại khu vực theo dõi sau tiêm. Về nhà theo dõi ít nhất 24 giờ, nếu cần hỗ trợ thì đến ngay cơ sở y tế gần nhất và thông báo với cơ sở tiêm chủng.</p> <p>-<i>Xử lý vỏ lọ vắc xin và hủy BKT đã sử dụng:</i> Sau khi tiêm xong bỏ ngay BKT vào hộp an toàn. Phân loại và bỏ vỏ lọ vắc xin vào thùng rác thải y tế theo quy định. Thu dọn dụng cụ, xử lý rác thải khác theo quy định.</p>
5	Theo dõi và xử trí PUSTC	<p>Khách hàng ở lại khu vực theo dõi sau tiêm để theo dõi ít nhất 30 phút sau tiêm.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Khách hàng có thể ra về sau 30 phút nếu không có phản ứng</li> <li>- Xử lý các PUSTC nếu có xảy ra</li> </ul>
6	Nhập liệu và báo cáo	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nhập dữ liệu tiêm chủng</li> <li>- Thực hiện các báo cáo theo quy định</li> </ul>

#### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

4.3.1. Trả kết quả: không áp dụng

4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu (sổ) tiêm chủng
2	Bảng kiểm trước tiêm chủng với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện
3	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện
4	Bảng kiểm trước tiêm chủng đối với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện
5	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện
6	Báo cáo các trường hợp phản ứng thông thường sau tiêm chủng
7	Báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng

### 4.3.3. Hồ sơ

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu (sổ) tiêm chủng	Khách hàng Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	Lâu dài
2	Bảng kiểm trước tiêm chủng với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
3	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng ngoài	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày

*Đường* *hmsd*

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
	bệnh viện			
4	Bảng kiểm trước tiêm chủng đối với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
5	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
6	Báo cáo các trường hợp phản ứng thông thường sau tiêm chủng	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy	10 năm
7	Báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy	10 năm

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện tiêm

#### 5.1.1 Sai sót trong khám sàng lọc đối tượng tiêm chủng

##### a. Sai sót trong quá trình tư vấn tiêm chủng

- Không khai thác hết tiền sử dị ứng, tiền sử các phản ứng bất lợi sau tiêm chủng của các mũi tiêm trước, bỏ sót tiền sử bệnh nền, tiền sử dùng thuốc...

- Chỉ định không đúng mũi tiêm, lịch tiêm, độ tuổi tiêm...

- Không tư vấn kỹ cho người được tiêm chủng, người giám hộ nhận biết hết những phản ứng bất lợi sau tiêm, hướng dẫn xử trí ban đầu

**Xử trí và cách phòng tránh:** Cần tư vấn đầy đủ:

- Lợi ích và nguy cơ khi tiêm chủng vắc xin để có cách phòng tránh phù hợp

- Liệt trình tiêm vắc xin và ghi rõ các ngày hẹn tiêm vào lịch tiêm chủng

- Cung cấp các nguồn thông tin chính thống để người dân tham khảo

- Cung cấp số điện thoại đường dây nóng để giải đáp thắc mắc và tư vấn về biến cố bất lợi sau tiêm chủng.

##### b. Sai sót trong khám sàng lọc và chỉ định tiêm chủng

- Bỏ qua chống chỉ định, hoãn tiêm



- Chỉ định sai vắc xin/sai liều /sai độ tuổi tiêm chủng
- Chỉ định sai đối tượng

#### **Xử trí và cách phòng tránh:**

- Tuân thủ đúng quyết định khám sàng lọc của Bộ Y tế
- Tập huấn thường xuyên và nắm vững các lịch tiêm chủng
- Dán lịch hoặc khoảng cách các loại vắc xin lên tường gần chỗ ngồi
- Cần khai thác thông tin chính xác từ đối tượng tham gia tiêm chủng và sổ / phiếu tiêm chủng cá nhân

- Nắm vững các lịch tiêm bắt kịp “catch up” để chỉ định tiêm phù hợp

#### 5.1.2 Sai sót liên quan đến bảo quản vắc xin và dung môi

- Vắc xin bị đông băng do phơi nhiễm với nhiệt độ thấp
- Vắc xin bị phơi nhiễm với nhiệt độ cao thường xuyên và lâu dài
- Vắc xin hết hạn sử dụng

#### **Xử trí và cách phòng tránh**

- Đọc nhiệt độ ít nhất 2 lần/ngày và ghi vào phiếu theo dõi nhiệt độ
- Sử dụng thiết bị theo dõi nhiệt độ điện tử và kiểm tra dữ liệu của thiết bị ít nhất 1 tuần/lần
- Kiểm tra hạn sử dụng hàng tuần và loại bỏ vắc xin khi hết hạn sử dụng
- Phân công một cán bộ quản lý vắc xin chính và một cán bộ dự phòng
- Chỉ sử dụng các thiết bị bảo quản vắc xin khi thiết bị đã được hiệu chuẩn và còn hạn sử dụng
- Có quy trình đáp ứng sự cố khẩn cấp, niêm phong/biệt trừ riêng các vắc xin đã phơi nhiễm với nhiệt độ ngoài khoảng quy định và thông báo cho đồng nghiệp, cán bộ quản lý
- Quan tâm vắc xin (như bệnh nhân ICU) khi nhiệt độ đến ngưỡng giới hạn cảnh báo ( $\leq 3^{\circ}\text{C}$  hoặc  $\geq 7^{\circ}\text{C}$ )
- Cần tăng tần suất theo dõi nhiệt độ: có thể theo dõi 1-2 tiếng/lần
- Đảm bảo theo dõi đủ, điều chỉnh nhiệt độ hợp lý đến khi nào nhiệt độ về lại khoảng  $(4-6)^{\circ}\text{C}$  và ổn định trong 1 khoảng thời gian thì mới nên quay lại chế độ theo dõi bình thường là 2 lần/ngày
- Độ đồng đều nhiệt trong quá trình bảo quản: cần thẩm định để đánh giá hàng năm
- Khuyến khích sử dụng thiết bị theo dõi có đầu dò được bảo quản trong dung dịch glycol nhằm giảm nhận định sai về nhiệt độ bảo quản

#### 5.1.3 Sai sót trong việc sử dụng dung môi hoặc vắc xin sau khi pha hồi chính

- Sử dụng không đúng dung môi: sai dung môi (khác loại, khác nhà sản xuất), đông băng dung môi, không bảo quản dung môi từ  $(2-8)^{\circ}\text{C}$  ít nhất 24 giờ trước khi sử dụng

*Handwritten signatures:*

- Sử dụng vắc xin đã pha hồi chỉnh không đúng

**Xử trí và cách phòng tránh:**

- Liệt kê các loại vắc xin/nhà sản xuất/thành phần vào sổ tay
- Chỉ sử dụng dung môi và vắc xin cùng loại và cùng nhà sản xuất (không thể thay thế cho nhau).
- Dán nhãn rõ ràng để phân biệt (khoanh tròn hoặc bôi màu thông tin trên nhãn) của dung môi nếu nhãn của nhà sản xuất có thể gây hiểu nhầm.

- Nên bảo quản, đóng gói và phân phối cùng nhau.

- Kiểm tra 3 lần tại 3 thời điểm khác nhau.

- Tập huấn thường xuyên để nhân viên hiểu rõ tầm quan trọng của việc thực hành đúng này

**5.1.4 Sử dụng vắc xin không đúng qui định**

- Mở nhiều lọ vắc xin cùng lúc.

- Hút sẵn vắc xin vào BKT khi chưa tiêm, không được cài vắc xin vào miệng xốp.

**5.2. Trong quá trình thực hiện tiêm vắc xin**

- Tiêm nhầm thuốc

- Tiêm sai đường tiêm

- Tiêm sai liều tiêm

- Tiêm sai đối tượng

- Chạm tay vào những vị trí không được phép của bơm kim tiêm trước khi tiêm chủng cho đối tượng

- Tay hoặc vật không vô trùng ấn vào chỗ tiêm chảy máu

- Bơm kim tiêm đâm, chọc trúng cơ thể

- Sức khỏe cán bộ tham gia tiêm không đảm bảo

**Xử trí và cách phòng tránh:**

- Thực hiện 3 tra, 5 đúng

- Không bảo quản vắc xin chung với các loại thuốc khác

- Đánh dấu màu nhãn, mác theo lứa tuổi

- Bảo quản vắc xin ở các kệ, vị trí khác nhau trong trường hợp: Cùng 1 loại vắc xin nhưng hàm lượng khác nhau cho người lớn và trẻ em, có hình dạng giống nhau và tên gọi giống nhau

- Khi ghi chép thông tin tiêm chủng, chỉ sử dụng chữ viết tắt tiêu chuẩn (nếu có), không tự ghi tên viết tắt vắc xin theo ý mình (ví dụ ghi tên vắc xin 5 trong 1 thành vắc xin Hib, vắc xin DPT thành DTC...).

- Chữ viết cần rõ ràng, dễ đọc.

- Kiểm tra, đối chiếu đối tượng trước tiêm chủng

- Cán bộ tiêm phải được đào tạo và thành thạo các kỹ thuật tiêm



### 5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Không hướng dẫn đối tượng tiêm chủng ở lại theo dõi sức khỏe ít nhất 30 phút và theo dõi tại nhà ít nhất 24 giờ
- Không hướng dẫn đối tượng nhận diện và xử lý ban đầu những dấu hiệu, triệu chứng bất thường có thể gặp sau tiêm chủng.
- Không nhận diện, phát hiện các trường hợp tai biến nặng sau tiêm chủng
- Phát hiện nhưng không ghi nhận báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng.

#### Xử trí và cách phòng tránh:

- Tư vấn và hướng dẫn đầy đủ cho đối tượng sau tiêm
- Dặn dò và theo dõi đối tượng sau tiêm chủng đủ thời gian quy định
- Báo cáo phản ứng sau tiêm theo quy định

## 6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Không áp dụng

## 7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nghị định số 104/NĐ-CP của Thủ tướng Chính phủ ngày 01 tháng 07 năm 2016 về Hoạt động tiêm chủng;
- Nghị định số 13/2024/NĐ-CP của Chính phủ ngày 05 tháng 02 năm 2024 về sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định số 104/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 7 năm 2016 của Chính phủ quy định về hoạt động tiêm chủng;
- Thông tư số 34/2016/TT-BYT của Bộ Y Tế ngày 16 tháng 11 năm 2018 quy định chi tiết một số điều của Nghị định số 104/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 07 năm 2016 của Chính phủ quy định về Hoạt động tiêm chủng;
- Thông tư số 23/2011/TT-BYT ngày 10 tháng 6 năm 2011 của Bộ trưởng Bộ Y tế về hướng dẫn sử dụng thuốc trong các cơ sở y tế có giường bệnh;
- Thông tư số 51/2017/TT-BYT ngày 29 tháng 12 năm 2017 về Hướng dẫn phòng, chẩn đoán và xử trí phản vệ;
- Quyết định 1622/QĐ-BYT ban hành ngày 08 tháng 05 năm 2014 về phê duyệt “hướng dẫn giám sát, phòng chống bệnh dại trên người”
- Quyết định số: 1575/QĐ-BYT của Bộ Y Tế ngày 27 tháng 03 năm 2023, về việc ban hành Hướng dẫn khám sàng lọc trước tiêm chủng đối với trẻ em;
- Bộ Y Tế (2012). Hướng dẫn thực hành 55 kỹ thuật điều dưỡng cơ bản tập 1,2. Nhà xuất bản Giáo Dục Việt Nam;
- Đoàn Thị Anh Lê (2014). Kỹ thuật điều dưỡng cơ sở dựa trên chuẩn năng lực. Nhà xuất bản y học;
- Các hướng dẫn sử dụng vắc-xin.



**Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 314:  
CHO TRẺ UỐNG VẮC XIN PHÒNG BỆNH**

## **1. ĐẠI CƯƠNG**

### **1.1. Mục đích**

- Hướng dẫn thực hiện đúng các trình tự cho trẻ uống vắc xin
- Cho trẻ uống đúng vắc xin, đúng đối tượng

### **1.2. Định nghĩa**

#### 1.2.1. Giải thích từ ngữ

- *Khách hàng*: người có nhu cầu tiêm chủng/người được tiêm chủng
- *Người thân của khách hàng*: Là ông/bà/cha/mẹ hoặc người giáp hộ hợp pháp đưa trẻ đi tiêm chủng

- *Sai sót liên quan đến thực hành tiêm chủng* là sai sót gây ra do việc sử dụng vắc xin sai và gây ra các biến cố bất lợi tới đối tượng tiêm chủng. Đó có thể là những sai sót liên quan đến thực hành chuyên môn, vật tư tiêm chủng, quá trình bảo quản, pha hồi chính, tiêm chủng và theo dõi biến cố bất lợi sau tiêm chủng

#### 1.2.2 Từ viết tắt

- BKT: Bơm kim tiêm
- KTV: Kỹ thuật viên
- PUSTC: phản ứng sau tiêm chủng
- VPP: Văn phòng phẩm

### **1.3. Nguyên lý**

Tiêm chủng cần thực hiện đầy đủ theo các bước:

- Trước tiêm chủng: Khám sàng lọc, tư vấn cho đối tượng tiêm chủng. Trường hợp đối tượng tiêm chủng là trẻ em thì việc tư vấn thực hiện với cha, mẹ hoặc người giám hộ của trẻ;

- Trong khi tiêm chủng: thực hiện tiêm chủng theo đúng chỉ định, bảo đảm an toàn;

- Sau khi tiêm chủng: Theo dõi người được tiêm chủng ít nhất 30 phút sau tiêm chủng và hướng dẫn gia đình hoặc đối tượng tiêm chủng để tiếp tục theo dõi ít nhất 24 giờ sau tiêm chủng.

## **2. CHUẨN BỊ**

### **2.1. Người thực hiện**

- Y sĩ trình độ từ trung cấp trở lên/Bác sĩ trình độ từ đại học trở lên: 01 người
- Điều dưỡng trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người
- Nhân viên tiếp nhận trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người
- Tiếp nhận, phân phối và bảo quản vắc xin trình độ từ trung cấp trở lên: 02 người

- Nhân sự nghe điện thoại đường dây nóng trình độ từ trung cấp trở lên: 01 người

## 2.2. Vật tư

### 2.2.1. Sinh phẩm, hoá chất

- Vắc xin phòng bệnh dạng uống
- Adrenalin 1mg/1 mL/ống
- Methylprednisolon 40mg/lọ
- Diphenhydramin 10mg/ống
- Nước cất 10 mL/ống
- Dung dịch Sodium clorid 0,9%
- Nước tẩy quần áo
- Cồn 70 %/dung dịch khử trùng nhanh
- Viên nén dùng cho khử nhiễm
- Nước sát khuẩn tay
- Bột giặt
- Chloramin B (lau sàn khu phòng khám)

### 2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Trang phục chuyên môn, khẩu trang
- Găng tay các loại
- Bơm kim tiêm các loại
- Hộp an toàn, thùng đựng rác, túi hoặc hộp đựng vỏ vắc xin.
- Nước sát khuẩn.
- Thùng nhựa
- Chậu nhựa
- VPP: bút, giấy, đồ bấm giấy, ghim bấm, kẹp giấy, kéo...

## 2.3. Thiết bị

### 2.3.1 Trang thiết bị chung

- Ống nghe, nhiệt kế, đèn lườ, máy đo huyết áp, dụng cụ cân đo trẻ em, đèn soi ...
- Tủ lạnh, hòm lạnh, phích lạnh phục vụ bảo quản huyết thanh
- Kho lạnh bảo quản vắc xin, máy phát điện dự phòng
- Máy tính, máy in, máy photo, máy scan ...
- Phần mềm quản lý tiêm chủng, phần mềm thu phí, ...

### 2.3.2 Trang thiết bị y tế và thuốc tối thiểu cấp cứu phân vệ

- Bình Oxy
- Bóng AMBU và mặt nạ người lớn và trẻ nhỏ

*Handwritten signature*

*Handwritten signature*

- Bơm xịt salbutamol
- Các thuốc chống dị ứng đường uống
- Dịch truyền: natriclorid 0,9%.

#### 2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện tiêm chủng vắc-xin

- Đối tượng được tiêm phải được khám sàng lọc và đã có chỉ định tiêm, có sổ/phiếu đã có chỉ định của bác sĩ/y sĩ.

#### 2.5. Phiếu/sổ tiêm chủng

- Sổ tiêm chủng/ phiếu chỉ định tiêm chủng.
- Kiểm tra phiếu/ sổ chỉ định tiêm chủng: đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên đối tượng tiêm chủng, giới tính, ngày tháng năm sinh, địa chỉ, điện thoại, loại vắc xin cần tiêm ...

#### 2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật uống vắc xin

10-15phút/01 liều uống vắc xin

#### 2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Thực hiện tại phòng tiêm chủng của đơn vị tiêm chủng

### 3. AN TOÀN

- Thực hiện tiêm chủng an toàn trong và sau buổi tiêm chủng
- Chỉ tiếp nhận và tiêm/cho uống vắc xin cho khách hàng có chỉ định hợp lệ (đã được khám sàng lọc và có chỉ định của bác sĩ/y sĩ)
- Luôn tuân thủ cho trẻ uống vắc xin theo đúng chỉ định của nhà sản xuất vắc xin
- Luôn kiểm tra sự đầy đủ của hộp thuốc chống sốc trước mỗi buổi tiêm chủng
- Mỗi bàn tiêm chỉ tiếp nhận 01 người mỗi lần.
- Nếu trong một buổi tiêm có nhiều mũi vắc xin được chỉ định, ưu tiên vắc xin uống trước (nếu có), sau đó tiêm mũi tiêm ít đau trước.

### 4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 4.1. Các bước thực hiện

STT	Nội dung thực hiện	Mô tả
1	Tiếp đón khách hàng	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Hỏi nhu cầu khách hàng</li> <li>- Thu thập thông tin khách hàng và nhập thông tin vào phần mềm tiêm chủng.</li> <li>- Thực hiện đo nhiệt độ, cân đo (nếu là trẻ em) và ghi vào sổ tiêm chủng</li> <li>- Phát số thứ tự và hướng dẫn chờ tới lượt vào phòng khám sàng lọc</li> </ul>
2	Tư vấn và khám sàng lọc	Khám sàng lọc theo quy trình “Tư vấn và khám



STT	Nội dung thực hiện	Mô tả
	trước tiêm	sàng lọc trước tiêm chủng”
3	Thu tiền tiêm chủng	Theo quy trình thu tiền tại đơn vị
4	Thực hiện kỹ thuật cho trẻ uống vắc xin	<p><b>-Thực hiện 3 tra-5 đúng: 3 tra</b> (họ tên, năm sinh của khách hàng; Tên thuốc, Liều thuốc); <b>5 đúng</b> (Đúng người bệnh, Đúng thuốc, Đúng liều, Đúng đường dùng, Đúng thời gian)</p> <p>-Sát khuẩn tay bằng dung dịch sát khuẩn tay nhanh</p> <p>- Lấy vắc xin (theo chỉ định) từ dây chuyền lạnh (tủ lạnh/hòm lạnh/phích lạnh/...). Kiểm tra tính nguyên vẹn của vỏ hộp (nếu có),</p> <p>- Cho khách hàng/người thân thấy được nhãn hiệu của vắc xin đồng thời thông báo về: Tên vắc xin, liều lượng, nhà sản xuất, hạn dùng của vắc xin.</p> <p>- Cho trẻ uống vắc xin theo chỉ định của y/bác sỹ:</p> <p>+ Thông báo cho khách hàng trẻ sẽ được uống vắc xin. Hướng dẫn người nhà giữ trẻ đúng tư thế trước khi cho trẻ uống vắc xin</p> <p>+Sát khuẩn tay nhanh bằng dung dịch sát khuẩn tay nhanh ngay trước khi chuẩn bị vắc xin</p> <p>+Quan sát xem vắc xin có phần tử lạ hay bất thường nào hay không. Biệt trừ vắc xin nếu có bất thường, lấy vắc xin khác thay thế</p> <p>+ Thực hiện thao tác mở lọ vắc xin: Tháo nắp bảo vệ đầu ống uống. Với vắc xin cần hút vắc xin vào BKT, loại bỏ kim tiêm ngay sau khi lấy đủ vắc xin.</p> <p>+<i>Thực hiện cho trẻ uống vắc xin:</i> Cho trẻ nằm ngửa trong tay người thân, đầu nghiêng một bên, hai tay bóp nhẹ hai bên má trẻ để há miệng. Nhẹ nhàng đưa đầu ống vắc xin tiến gần miệng trẻ, hướng vào thành bên của miệng và cho trẻ uống từng giọt, để trẻ từ từ nuốt cho đến khi hết ống vắc xin. Lưu ý không để vắc xin bắn vào họng và khí quản của trẻ.</p> <p>-Thông báo cho khách hàng/người thân biết đã cho trẻ uống vắc xin xong. Dặn khách hàng ngồi theo dõi 30 phút theo dõi sau tiêm tại khu vực theo dõi sau tiêm. Về nhà theo dõi ít nhất 24 giờ, nếu cần hỗ trợ thì đến ngay cơ sở y tế gần nhất và thông báo với cơ sở tiêm chủng. Ký xác nhận dẫn tiêm vào sổ tiêm chủng.</p>

STT	Nội dung thực hiện	Mô tả
		<i>-Xử lý vỏ lọ vắc xin và hủy BKT đã sử dụng:</i> Sau khi cho trẻ uống xong, bỏ ngay BKT vào hộp an toàn. Phân loại và bỏ vỏ lọ vắc xin vào thùng rác thải y tế theo quy định. Thu dọn dụng cụ, xử lý rác thải khác theo quy định.
5	Theo dõi và xử lý PUSTC	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Khách hàng ở lại khu vực theo dõi sau tiêm để theo dõi ít nhất 30 phút sau tiêm.</li> <li>- Khách hàng có thể ra về sau 30 phút nếu không có phản ứng</li> <li>- Xử lý các PUSTC nếu có xảy ra</li> </ul>
6	Nhập liệu và báo cáo	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nhập dữ liệu tiêm chủng</li> <li>- Thực hiện các báo cáo theo quy định</li> </ul>

#### 4.2. Nhận định kết quả

Không áp dụng

#### 4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ:

4.3.1. Trả kết quả: không áp dụng

4.3.2. Phụ lục và biểu mẫu

STT	Tên phụ lục, biểu mẫu
1	Phiếu (sổ) tiêm chủng
2	Bảng kiểm trước tiêm chủng với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện
3	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện
4	Bảng kiểm trước tiêm chủng đối với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện
5	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện
6	Báo cáo các trường hợp phản ứng thông thường sau tiêm chủng
7	Báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng

4.3.3. Hồ sơ

STT	Tên hồ sơ	Đơn vị lưu trữ	Hình thức lưu	Thời gian lưu
1	Phiếu (sổ) tiêm chủng	Khách hàng Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	Lâu dài
2	Bảng kiểm trước tiêm chủng với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
3	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng ngoài bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
4	Bảng kiểm trước tiêm chủng đối với đối tượng từ 1 tháng tuổi trở lên tại các cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
5	Bảng kiểm trước tiêm chủng cho trẻ sơ sinh (dưới 1 tháng tuổi) tại cơ sở tiêm chủng thuộc bệnh viện	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy hoặc Điện tử hoặc cả 2	15 ngày
6	Báo cáo các trường hợp phản ứng thông thường sau tiêm chủng	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy	10 năm
7	Báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng	Đơn vị thực hiện tiêm chủng	Bản giấy	10 năm

## 5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 5.1. Trước khi thực hiện tiêm

#### 5.1.1 Sai sót trong khám sàng lọc đối tượng tiêm chủng

##### a. Sai sót trong quá trình tư vấn tiêm chủng

- Không khai thác hết tiền sử dị ứng, tiền sử các phản ứng bất lợi sau tiêm chủng

*Được* *mm*



của các mũi tiêm trước, bỏ sót tiền sử bệnh nền, tiền sử dùng thuốc...

- Chỉ định không đúng mũi tiêm, lịch tiêm, độ tuổi tiêm...

- Không tư vấn kỹ cho người được tiêm chủng, người giám hộ nhận biết hết những phản ứng bất lợi sau tiêm, hướng dẫn xử trí ban đầu

**Xử trí và cách phòng tránh:** Cần tư vấn đầy đủ:

- Lợi ích và nguy cơ khi tiêm chủng vắc xin để có cách phòng tránh phù hợp

- Liệu trình tiêm vắc xin và ghi rõ các ngày hẹn tiêm vào lịch tiêm chủng

- Cung cấp các nguồn thông tin chính thống để người dân tham khảo

- Cung cấp số điện thoại đường dây nóng để giải đáp thắc mắc và tư vấn về biến cố bất lợi sau tiêm chủng.

*b. Sai sót trong khám sàng lọc và chỉ định tiêm chủng*

- Bỏ qua chống chỉ định, hoãn tiêm

- Chỉ định sai vắc xin/sai liều /sai độ tuổi tiêm chủng

- Chỉ định sai đối tượng

**Xử trí và cách phòng tránh:**

- Tuân thủ đúng quyết định khám sàng lọc của Bộ Y tế

- Tập huấn thường xuyên và nắm vững các lịch tiêm chủng

- Dán lịch hoặc khoảng cách các loại vắc xin lên tường gần chỗ ngồi

- Cần khai thác thông tin chính xác từ đối tượng tham gia tiêm chủng và sổ/ phiếu tiêm chủng cá nhân

- Nắm vững các lịch tiêm bắt kịp “catch up” để chỉ định tiêm phù hợp

5.1.2 Sai sót liên quan đến bảo quản vắc xin và dung môi

- Vắc xin bị đông băng do phơi nhiễm với nhiệt độ thấp

- Vắc xin bị phơi nhiễm với nhiệt độ cao thường xuyên và lâu dài

- Vắc xin hết hạn sử dụng

**Xử trí và cách phòng tránh**

- Đọc nhiệt độ ít nhất 2 lần/ngày và ghi vào phiếu theo dõi nhiệt độ

- Sử dụng thiết bị theo dõi nhiệt độ điện tử và kiểm tra dữ liệu của thiết bị ít nhất 1 tuần/lần

- Kiểm tra hạn sử dụng hàng tuần và loại bỏ vắc xin khi hết hạn sử dụng

- Phân công một cán bộ quản lý vắc xin chính và một cán bộ dự phòng

- Chỉ sử dụng các thiết bị bảo quản vắc xin khi thiết bị đã được hiệu chuẩn và còn hạn sử dụng

- Có quy trình đáp ứng sự cố khẩn cấp, niêm phong/biệt trữ riêng các vắc xin đã phơi nhiễm với nhiệt độ ngoài khoảng quy định và thông báo cho đồng nghiệp, cán bộ quản lý

- Quan tâm vắc xin (như bệnh nhân ICU) khi nhiệt độ đến ngưỡng giới hạn cảnh báo ( $\leq 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  hoặc  $\geq 7\text{ }^{\circ}\text{C}$ )

- Cần tăng tần suất theo dõi nhiệt độ: có thể theo dõi 1-2 tiếng/lần

- Đảm bảo theo dõi đủ, điều chỉnh nhiệt độ hợp lý đến khi nào nhiệt độ về lại khoảng  $(4-6)\text{ }^{\circ}\text{C}$  và ổn định trong 1 khoảng thời gian thì mới nên quay lại chế độ theo dõi bình thường là 2 lần/ngày

- Độ đồng đều nhiệt trong quá trình bảo quản: cần thẩm định để đánh giá hàng năm

- Khuyến khích sử dụng thiết bị theo dõi có đầu dò được bảo quản trong dung dịch glycol nhằm giảm nhận định sai về nhiệt độ bảo quản

5.1.3 Sai sót trong việc sử dụng dung môi hoặc vắc xin sau khi pha hồi chỉnh

- Sử dụng không đúng dung môi: sai dung môi (khác loại, khác nhà sản xuất), đông băng dung môi, không bảo quản dung môi từ  $(2-8)\text{ }^{\circ}\text{C}$  ít nhất 24 giờ trước khi sử dụng

- Sử dụng vắc xin đã pha hồi chỉnh không đúng

#### **Xử trí và cách phòng tránh:**

- Liệt kê các loại vắc xin/nhà sản xuất/thành phần vào sổ tay

- Chỉ sử dụng dung môi và vắc xin cùng loại và cùng nhà sản xuất (không thể thay thế cho nhau).

- Dán nhãn rõ ràng để phân biệt (khoanh tròn hoặc bôi màu thông tin trên nhãn) của dung môi nếu nhãn của nhà sản xuất có thể gây hiểu nhầm.

- Nên bảo quản, đóng gói và phân phối cùng nhau.

- Kiểm tra 3 lần tại 3 thời điểm khác nhau.

- Tập huấn thường xuyên để nhân viên hiểu rõ tầm quan trọng của việc thực hành đúng này

5.1.4 Sử dụng vắc xin không đúng qui định:

- Mở nhiều lọ vắc xin cùng lúc.

- Hút sẵn vắc xin vào BKT khi chưa tiêm, không được cài vắc xin vào miệng xốp.

#### **5.2. Trong quá trình thực hiện tiêm vắc xin**

- Tiêm nhầm thuốc

- Tiêm sai đường tiêm

- Tiêm sai liều tiêm

- Tiêm sai đối tượng

- Chạm tay vào những vị trí không được phép của bơm kim tiêm trước khi tiêm chủng cho đối tượng

- Tay hoặc vật không vô trùng ấn vào chỗ tiêm chảy máu

- Bơm kim tiêm đâm, chọc trúng cơ thể



- Sức khỏe cán bộ tham gia tiêm không đảm bảo

#### **Xử trí và cách phòng tránh:**

- Thực hiện 3 tra, 5 đúng
- Không bảo quản vắc xin chung với các loại thuốc khác
- Đánh dấu màu nhãn, mác theo lứa tuổi
- Bảo quản vắc xin ở các kệ, vị trí khác nhau trong trường hợp: Cùng 1 loại vắc xin nhưng hàm lượng khác nhau cho người lớn và trẻ em, có hình dạng giống nhau và tên gọi giống nhau
- Khi ghi chép thông tin tiêm chủng, chỉ sử dụng chữ viết tắt tiêu chuẩn (nếu có), không tự ghi tên viết tắt vắc xin theo ý mình (ví dụ ghi tên vắc xin 5 trong 1 thành vắc xin Hib, vắc xin DPT thành DTC...).
- Chữ viết cần rõ ràng, dễ đọc.
- Kiểm tra, đối chiếu đối tượng trước tiêm chủng
- Cán bộ tiêm phải được đào tạo và thành thạo các kỹ thuật tiêm

#### **5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật**

Không hướng dẫn đối tượng tiêm chủng ở lại theo dõi sức khỏe ít nhất 30 phút và theo dõi tại nhà ít nhất 24 giờ

- Không hướng dẫn đối tượng nhận diện và xử lý ban đầu những dấu hiệu, triệu chứng bất thường có thể gặp sau tiêm chủng.
- Không nhận diện, phát hiện các trường hợp tai biến nặng sau tiêm chủng
- Phát hiện nhưng không ghi nhận báo cáo các trường hợp phản ứng nặng sau tiêm chủng.

#### **Xử trí và cách phòng tránh:**

- Tư vấn và hướng dẫn đầy đủ cho đối tượng sau tiêm
- Dặn dò và theo dõi đối tượng sau tiêm chủng đủ thời gian quy định
- Báo cáo phản ứng sau tiêm theo quy định

### **6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

Không áp dụng

### **7. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Nghị định số 104/NĐ-CP của Thủ tướng Chính phủ ngày 01 tháng 07 năm 2016 về Hoạt động tiêm chủng;
- Nghị định số 13/2024/NĐ-CP của Chính phủ ngày 05 tháng 02 năm 2024 về sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định số 104/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 7 năm 2016 của Chính phủ quy định về hoạt động tiêm chủng;
- Thông tư số 34/2016/TT-BYT của Bộ Y Tế ngày 16 tháng 11 năm 2016 quy định chi tiết một số điều của Nghị định số 104/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 07 năm 2016 của Chính phủ quy định về Hoạt động tiêm chủng;



- Thông tư số 23/2011/TT-BYT ngày 10 tháng 6 năm 2011 của Bộ trưởng Bộ Y tế về hướng dẫn sử dụng thuốc trong các cơ sở y tế có giường bệnh;

- Thông tư số 51/2017/TT-BYT ngày 29 tháng 12 năm 2017 về Hướng dẫn phòng, chẩn đoán và xử trí phản vệ;

- Quyết định số: 1575/QĐ-BYT của Bộ Y Tế ngày 27 tháng 03 năm 2023, về việc ban hành Hướng dẫn khám sàng lọc trước tiêm chủng đối với trẻ em;

- Bộ Y Tế (2012). Hướng dẫn thực hành 55 kỹ thuật điều dưỡng cơ bản tập 1,2. Nhà xuất bản Giáo Dục Việt Nam;

- Đoàn Thị Anh Lê (2014). Kỹ thuật điều dưỡng cơ sở dựa trên chuẩn năng lực. Nhà xuất bản y học;

- Các hướng dẫn sử dụng vắc-xin.



