



VIỆN KIỂM NGHIỆM THUỐC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Địa chỉ: 200 đường Cô Bắc, Phường Cầu Ông Lãnh, TP. Hồ Chí Minh

Điện thoại: 028.38368518 - 028.38374802

Website: <https://vienkiemnghiem.gov.vn> Email: pts@vienkiemnghiem.gov.vn

CHƯƠNG TRÌNH THỬ NGHIỆM THÀNH THẠO SO SÁNH LIÊN PHÒNG THÍ NGHIỆM 2026

DỰ THẢO

BÁO CÁO TỔNG HỢP PHÉP THỬ NỘI ĐỘC TỔ VỊ KHUẨN ILT 2026 – 13

Thời hạn tiếp nhận góp ý: **23/10/2026**

Mọi thông tin phản hồi về nội dung Dự thảo xin liên hệ:

Trung tâm Đào tạo & DVKN – Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP.HCM

Email: pts@vienkiemnghiem.gov.vn

Điện thoại: 028 38374802/ 028 38368518 (NB 13)

Tháng 11/2026

MỤC LỤC

NỘI DUNG	TRANG
Danh mục các từ viết tắt	2
Danh mục các kí hiệu	3
Danh mục các bảng	4
Thông tin Chương trình thử nghiệm thành thạo	5
Thông tin về phép thử	9
Giới thiệu	9
Mẫu thử	9
Giá trị tham chiếu	10
Kết quả	10
- <i>Kết quả phân tích</i>	10
- <i>PTN cần xem xét và cần có biện pháp khắc phục</i>	13
Nhận xét và Khuyến nghị	13
Tài liệu tham khảo	21

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

BET	Bacterial Endotoxin Testing (Thử nghiệm nội độc tố vi khuẩn)
BTC	Ban tổ chức
ILT	Interlaboratory Test (Thử nghiệm liên phòng thí nghiệm)
ISO	International Organization for Standardization (Tổ chức tiêu chuẩn hóa quốc tế)
MVD	Maximum valid dilution (Độ pha loãng tối đa)
PC	Positive Control (đối chứng dương tính)
PPC	Positive Product Control (đối chứng dương tính có mẫu thử)
PTN	Phòng thí nghiệm
RH	Relative humidity (Độ ẩm tương đối)
TB	Trung bình
TNTT	Thử nghiệm thành thạo

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU

D_i	Giá trị sai khác của từng PTN
$D_i (\%)$	Giá trị sai khác tương đối, biểu thị bằng phần trăm
S^2	Phương sai
$u(x_{pt})$	Độ không đảm bảo đo chuẩn của giá trị ấn định thu được từ PTN tham gia
$\bar{X}$	Giá trị trung bình của từng PTN
x_i	Giá trị của từng mẫu
x_{pt}	Giá trị ấn định
$z\text{-score}$	Giá trị z
δE	Sai lệch tối đa cho phép
σ_{pt}	Độ lệch chuẩn để đánh giá trong chương trình
λ	Độ nhạy trên nhãn của thuốc thử lysat

DANH MỤC CÁC BẢNG

BẢNG	TÊN BẢNG	TRANG
1	Kết quả phân tích của các PTN	10
2	Các PTN cần xem xét và khắc phục	12

THÔNG TIN CHƯƠNG TRÌNH THỬ NGHIỆM THÀNH THẠO

I. Giới thiệu chung

1. Mục đích chương trình

- Đánh giá năng lực của phòng thí nghiệm (PTN) tham gia dựa trên các tiêu chí được thiết lập trước bằng cách so sánh liên phòng [5].
- Đánh giá mức độ thành thạo của kiểm nghiệm viên (KNV) và năng lực của một PTN so với mặt bằng chung của các PTN khác. Giúp kiểm soát năng lực kỹ thuật của các tổ chức được công nhận và đảm bảo phù hợp theo yêu cầu của các tổ chức quốc tế về công nhận.
- Dựa vào kết quả đánh giá của chương trình, các PTN tham gia có thể cải tiến về độ chính xác của dữ liệu phân tích, chứng minh năng lực kỹ thuật và giúp PTN duy trì, kiểm soát hiệu lực của phép đo lường, thử nghiệm.

2. Quy trình thực hiện

2.1. Thành lập Ban tổ chức (BTC) và xây dựng chương trình

BTC được thành lập cho chương trình thử nghiệm thành thạo, gồm nhiều chuyên gia kỹ thuật có uy tín, bằng cấp, kinh nghiệm trong lĩnh vực thử nghiệm, trong việc đánh giá kết quả dữ liệu.

Xây dựng chương trình gồm các nội dung sau:

- Chỉ định các phép thử, đối tượng phân tích và phương pháp phân tích được thực hiện thành thạo.
- Phạm vi của các giá trị sẽ được tính đến và số lượng mẫu.
- Chuẩn bị quy trình thử nghiệm, biểu mẫu báo cáo, tài liệu kèm theo cho từng phép thử.
- Chỉ định cách xác định giá trị ấn định và độ lệch chuẩn để đánh giá thành thạo cho phù hợp với từng phép thử.
- Xây dựng phương pháp thống kê phù hợp để đánh giá chính xác các kết quả.
- Tính toàn vẹn của dữ liệu được đảm bảo khi có những thay đổi trong hệ thống quản lý.

2.2. Cung cấp và chuẩn bị mẫu

- BTC chương trình chịu trách nhiệm tổ chức việc cung cấp mẫu và chuẩn bị mẫu cho PTN tham gia.

- Việc chuẩn bị mẫu phải đảm bảo các mẫu đồng nhất và ổn định. Trong một số thử nghiệm, độ ổn định của mẫu tại điều kiện bảo quản khuyến cáo trong suốt quá trình diễn ra chương trình sẽ được đánh giá.
- Một số mẫu được chọn một cách ngẫu nhiên để kiểm tra độ đồng nhất của mẫu thử bằng quy trình thử nghiệm sử dụng trong chương trình ở cùng điều kiện thử nghiệm trước khi phân phối đến các PTN tham gia.
- Kết quả đánh giá độ đồng nhất sẽ được phân tích thống kê.

2.3. Tài liệu

Các tài liệu dùng cho chương trình thử nghiệm thành thạo gồm có:

- Thư mời được gửi tới các đơn vị bao gồm các phép thử, phí tham dự, biểu thời gian.
- Quy trình thử nghiệm được xây dựng hướng dẫn theo quy định Dược điển, yêu cầu PTN tham gia tuân thủ chặt chẽ.
- Biểu mẫu báo cáo kết quả được thiết kế phù hợp với từng phép thử.

2.4. Đóng gói và gửi mẫu

Đóng gói và phương pháp vận chuyển các mẫu phải đảm bảo mẫu thử luôn ổn định. Trong một số trường hợp, ảnh hưởng của quá trình vận chuyển sẽ được đánh giá.

2.5. Nhận kết quả

- Các kết quả từ các PTN tham gia gửi về cho BTC trong thời hạn quy định của chương trình.
- Các PTN được yêu cầu gửi tất cả các kết quả đúng thời hạn để đưa ra những giá trị chung cho toàn bộ phòng thí nghiệm.

2.6. Phân tích dữ liệu và thông báo kết quả

- Sau khi nhận được toàn bộ các kết quả từ các PTN tham gia, BTC đưa vào phân tích thống kê để có thể đưa ra dự thảo báo cáo kết quả xử lý thống kê cho các PTN tham gia xem xét, góp ý, hoàn chỉnh.
- Báo cáo tổng kết sẽ được đưa ra tại thời điểm hoàn thành chương trình và bao gồm toàn bộ dữ liệu thống kê từ các kết quả của các PTN tham gia và đánh giá kết quả của các PTN tham gia. Nếu PTN có số lạc, cần tìm nguyên nhân gây sai lệch và có hành động khắc phục.

2.7. Kỹ thuật thống kê

- Các giai đoạn xử lý thống kê kết quả từ các PTN theo ISO 13528:2022 ^[3] và ISO 17043:2023 ^[5].
- Độ đồng nhất giữa các mẫu có thể kiểm tra bằng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố (ANOVA – one way) hoặc dựa theo ISO 13528:2022 ^[3].
- Giá trị ấn định (x_{pt}) và độ lệch chuẩn đánh giá thành thạo (σ_{pt}) và Độ không đảm bảo đo chuẩn $u(x_{pt})$ của giá trị ấn định được tính từ kết quả của các phòng thí nghiệm tham gia và được xử lý theo kỹ thuật phân tích robust Algorithm A, theo hướng dẫn của ISO 13528:2022 ^[3].
- Nhận dạng số lặc theo phương sai bằng *test Cochran* và *test Grubbs*, theo hướng dẫn của ISO 13528:2022 ^[3].
- Giá trị sai khác (D) của các PTN so với giá trị ấn định x_{pt} theo công thức^[3]:

$$D_i = x_i - x_{pt} \quad \text{và} \quad D\% = 100(x_i - x_{pt})/x_{pt}$$

- Đánh giá độ lệch giữa kết quả của các phòng thí nghiệm so với giá trị ấn định bằng Giá trị *z score* theo công thức^[3]:

$$z_i = \frac{x_i - x_{pt}}{\sqrt{(\sigma_{pt})^2 + (u(x_{pt}))^2}}$$

2.8. Tính khách quan

- Các hoạt động trong suốt quá trình của chương trình bao gồm công tác tổ chức và quản lý đều đảm bảo tính khách quan.
- Ban Tổ chức cam kết không để tính thương mại hóa, các vấn đề tài chính hay áp lực cá nhân làm ảnh hưởng tới tính khách quan của chương trình.
- Ban Tổ chức chịu trách nhiệm theo dõi giám sát các hoạt động và mối liên hệ trong chương trình để nhận dạng rủi ro ảnh hưởng tới tính khách quan. Sự theo dõi này bao gồm cả liên hệ giữa các cá nhân.

2.9. Bảo mật thông tin

- Các thông tin của PTN tham gia được Ban Tổ chức cam kết bảo mật trong suốt chương trình.
- Các thông tin này chỉ được cung cấp phục vụ đánh giá trong chương trình và chuyên gia kỹ thuật khi đánh giá công nhận các PTN.

- Mỗi PTN được cấp ngẫu nhiên một mã số để đảm bảo tính bảo mật của kết quả và kết quả đánh giá của mỗi PTN trong báo cáo được thể hiện thông qua mã số.
- Danh tính của các bên tham gia trong chương trình sẽ được bảo mật và chỉ được biết bởi các nhân sự có liên quan tới công tác tổ chức chương trình, trừ khi bên tham gia hoặc khách hàng từ bỏ quyền bảo mật.
- Ban tổ chức thông tin chính thức đến PTN các nội dung hoạt động của quá trình sẽ công khai đăng tải và gửi đến các PTN trước khi công khai.

DRAFT

THÔNG TIN VỀ PHÉP THỬ

1. Giới thiệu

- Phép thử: **Nội độc tố vi khuẩn**
- Mã phép thử: ILT 2026 – 13
- Mẫu thử: Nước tinh khiết: mẫu A và mẫu B
- Số lượng PTN nhận mẫu thử: 28
- Số lượng PTN gửi kết quả về: 28

2. Chuẩn bị mẫu thử

- Mẫu thử được tiến hành pha chế và đóng gói trong tủ an toàn sinh học, đảm bảo điều kiện tránh nhiễm khuẩn, nhiệt độ $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, độ ẩm tương đối không quá 50 %RH.
- Mẫu thử được chuẩn bị từ chuẩn endotoxin, nước BET, dụng cụ thí nghiệm không ảnh hưởng đến phép thử và không chứa nội độc tố vi khuẩn, được cung cấp bởi nhà cung cấp đạt chuẩn ISO.
- Giới hạn nội độc tố:
 - + Mẫu A: $\leq 0,5\text{ EU/mL}$
 - + Mẫu B: $\leq 0,5\text{ EU/mL}$
- Đóng khoảng 15 mL dung dịch/ ống, đậy chặt nắp, quấn parafilm, dán nhãn.
- Mẫu được gửi đến các PTN tham gia ngay sau khi pha chế và đóng gói.

3. Đánh giá độ đồng nhất và độ ổn định mẫu thử

3.1 Đánh giá độ đồng nhất mẫu thử

- Lấy ngẫu nhiên 10 ống mỗi dung dịch của 3 lô mẫu A và mẫu B để kiểm tra độ đồng nhất mẫu bằng quy trình dùng trong chương trình TNTT của phép thử ở cùng điều kiện thử nghiệm.
- Mẫu thử được đánh giá là đồng nhất khi kết quả tất cả các ống ở mỗi mẫu A, mẫu B là như nhau.

Kết luận:

Mẫu thử được chuẩn bị cho chương trình TNTT phép thử ILT 2026-13: Nội độc tố vi khuẩn là đồng nhất.

3.2 Đánh giá độ ổn định mẫu thử

- Mẫu thử được đánh giá độ ổn định trong quá trình bảo quản: tiến hành ở nhiệt độ $2 - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ và nhiệt độ phòng ($t < 30\text{ }^{\circ}\text{C}$), 4 ống mẫu A và 4 ống mẫu B được lấy ngẫu

nhiên để kiểm tra độ ổn định mẫu sau 7 ngày, 15 ngày.

- Mẫu thử được đánh giá độ ổn định trong quá trình vận chuyển: tiến hành gửi mẫu khứ hồi đến 3 địa điểm Tuyên Quang, Nghệ An, Cà Mau; mỗi địa điểm gửi 2 ống mẫu A và 2 ống mẫu B, để kiểm tra ảnh hưởng của quá trình vận chuyển.
- Mẫu thử được đánh giá độ ổn định trong thời hạn của chương trình: 2 ống mỗi mẫu A và 2 ống mẫu B, được bảo quản ở nhiệt độ phòng ($t < 30\text{ }^{\circ}\text{C}$), kiểm tra độ ổn định mẫu tại thời điểm 1 tuần sau khi hết hạn thử nghiệm.
- Quy trình thử nghiệm: sử dụng quy trình dùng trong chương trình TNTT của phép thử ở cùng điều kiện thử nghiệm.

Kết luận:

Mẫu thử được chuẩn bị cho chương trình TNTT 2026 - Phép thử nội độc tố vi khuẩn đạt độ ổn định:

- + Trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ $2 - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ và ở nhiệt độ phòng ($t < 30\text{ }^{\circ}\text{C}$) sau 15 ngày.
- + Trong quá trình vận chuyển.
- + Trong thời hạn của chương trình.

4. Giá trị tham chiếu

Từ kết quả khảo sát đánh giá độ đồng nhất và độ ổn định mẫu, kết quả nội độc tố vi khuẩn của mẫu A và mẫu B được kết luận như sau:

- Mẫu A: Không đạt
- Mẫu B: Đạt

PTN tham gia chương trình thử nghiệm thành thạo được kết luận **đạt** khi có kết quả:

Mẫu A	Mẫu B
Không đạt	Đạt

5. Kết quả phân tích

5.1. Kết quả phân tích từ các PTN

Bảng 1. Kết quả phân tích của các PTN

Mã PTN	Mẫu A	Mẫu B	Kết luận
1	Không đạt	Đạt	Đạt
2	Đạt	Đạt	Không đạt
3	Không đạt	Đạt	<i>Không có giá trị để kết luận</i>
4	Không đạt	Đạt	Đạt
5	Không đạt	Đạt	<i>Không có giá trị để kết luận</i>
6	Không đạt	Đạt	<i>Không có giá trị để kết luận</i>
7	Không đạt	Đạt	Đạt
8	Không đạt	Đạt	Đạt
9	Không đạt	Đạt	<i>Không có giá trị để kết luận</i>
10	Không đạt	Đạt	<i>Không có giá trị để kết luận</i>
11	Không đạt	Đạt	Đạt
12	Không đạt	Đạt	<i>Không có giá trị để kết luận</i>
13	Không đạt	Đạt	<i>Không có giá trị để kết luận</i>
14	Không đạt	Đạt	Đạt
15	Không đạt	Đạt	Đạt

Mã PTN	Mẫu A	Mẫu B	Kết luận
16	Không đạt	Đạt	Đạt
17	Không đạt	Đạt	<i>Không có giá trị để kết luận</i>
18	Không đạt	Đạt	Đạt
19	Không đạt	Đạt	Đạt
20	Không đạt	Đạt	Đạt
21	Không đạt	Đạt	Đạt
22	Không đạt	Đạt	Đạt
23	Không đạt	Đạt	Đạt
24	Không đạt	Đạt	Đạt
25	Không đạt	Đạt	<i>Không có giá trị để kết luận</i>
26	Không đạt	Đạt	Đạt
27	Không đạt	Đạt	<i>Không có giá trị để kết luận</i>
28	Không đạt	Đạt	Đạt

5.2. Đánh giá kết quả

60,7 % Kết quả PTN tham gia đạt yêu cầu (18/28 PTN).

- 01 PTN tham gia có kết quả không đạt: PTN 2.
- 10 PTN tham gia có kết quả không có giá trị để kết luận:
 - Mẫu A kết luận không đạt khi có độ pha loãng nhỏ hơn MVD: PTN 5; 10; 27.

- Mẫu PPC có nồng độ nội độc tố trong mẫu thử ở độ pha loãng lớn hơn MVD: PTN **3; 9; 13, 17, 25**.
- Mẫu PC, PPC có nồng độ nội độc tố λ trong mỗi dung dịch: PTN **6**.
- Mẫu PC, PPC đọc kết quả dương tính nhưng hình ảnh thể hiện gel không tạo thành hoặc gel không đủ chắc chắn: PTN **12**.

5.3. Các PTN cần xem xét và khắc phục

Các PTN cần xem xét lại quá trình tiến hành để tìm nguyên nhân và biện pháp khắc phục được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Các PTN cần xem xét và khắc phục

Mã PTN	Mẫu A	Mẫu B
2	++	-
3	+	+
5	+	-
6	+	+
9	+	+
10	+	-
13	+	+
17	+	+
25	+	+
27	+	-

Ghi chú:

- +
 - ++
- : Kết quả cần xem xét lại.
: Kết quả không đạt, nên xem xét và khắc phục

6. Nhận xét và khuyến nghị

6.1. Nhận xét chung

- Đa số các PTN không cung cấp thông tin tủ sấy, đầu dò nhiệt độ, dữ liệu sấy hoặc nếu không sấy phải có COA của ống nghiệm (free endotoxin) được dùng.

Không cung cấp thông tin các thiết bị bảo quản chuẩn endotoxin, thuốc thử lysat chưa hoàn nguyên và thuốc thử lysat đã hoàn nguyên.

- Đa số các PTN không cung cấp hình ảnh thể hiện dốc ngược ống nghiệm 180 ° khi đọc kết quả trong kỹ thuật tạo gel.
- Đa số các PTN sử dụng phương pháp định lượng không cung cấp, mô tả quy trình thực hiện trên thiết bị, cách chuẩn bị các dung dịch mẫu thử, đường chuẩn, PPC.
- Mẫu thử không đạt chưa thực hiện pha loãng đến MVD theo hướng dẫn của ĐĐVN V.

6.2. Xem xét từ báo cáo các phòng thí nghiệm tham gia

PTN 2:

- Dãy nồng độ đường chuẩn: 0,012 EU/mL; 0,12 EU/mL; 120 EU/mL không có các điểm nồng độ ở giữa khoảng 0,12 – 120 EU/mL là chưa phù hợp với hướng dẫn trong COA thuốc thử: đường chuẩn cần được pha loãng với cấp số nhân để thu được dãy nồng độ chuẩn tối ưu, ví dụ: đường chuẩn có hệ số pha loãng 10 bao gồm các điểm sau: 0,01 EU/mL, 0,1 EU/mL, 1 EU/mL, 10 EU/mL, 100 EU/mL.
- Điểm nồng độ thấp nhất của đường chuẩn là 0,012 EU/mL, tuy nhiên kết quả phân tích mẫu B có hàm lượng nội độc tố <0,008 EU/mL, giá trị này nằm ngoài giới hạn định lượng của đường chuẩn.
- Báo cáo không có thông tin của việc chuẩn bị các dung dịch thử (độ pha loãng), PPC (nồng độ chuẩn nội độc tố thêm vào); không có giá trị phục hồi của dung dịch PPC.

PTN 3:

- Dung dịch PPC: PTN pha loãng nội độc tố 2 lần từ dung dịch thử ở độ pha loãng bằng giới hạn pha loãng tối đa MVD, dẫn đến mẫu thử có độ pha loãng lớn hơn MVD (2*MVD) trong dung dịch PPC. Điều này không tuân thủ hướng dẫn thực hiện phép thử trong ĐĐVN V: pha nội độc tố trong mẫu thử ở độ pha loãng không quá MVD.

PTN 5:

- PTN có thực hiện điều chỉnh pH nhưng không cung cấp thông tin của dung dịch dùng điều chỉnh pH.
- Mẫu A có độ pha loãng thực tế của mẫu thử là 8 nhỏ hơn $MVD = 16,67$, kết quả không đạt, chưa thực hiện thử nghiệm lại mẫu thử ở độ pha loãng bằng MVD, vì vậy kết luận không đạt là không phù hợp.
- Hình ảnh đọc kết quả chưa thể hiện dốc ngược ống nghiệm 180° .

PTN 6:

- Dung dịch PC, PPC có nồng độ nội độc tố thêm vào là λ trong mỗi dung dịch, điều này không tuân thủ hướng dẫn thực hiện phép thử trong ĐĐVN V: h nồng độ nội độc tố thêm vào cho mỗi dung dịch PC và PPC phải có giá trị bằng 2λ (0,06 EU/mL).

PTN 7:

- Mẫu A: độ pha loãng mẫu thử trong tính toán và đánh giá kết quả là 20 lần tương ứng với kết quả 0,839 EU/mL, tuy nhiên báo cáo thể hiện độ pha loãng là 10 lần: hút 100 μ l mẫu thử và 900 μ l nước BET (tỉ lệ pha loãng 1:10) tương ứng kết quả hàm lượng nội độc tố là 0,42 EU/mL.

PTN 9:

- Dung dịch PPC: PTN pha loãng nội độc tố 2 lần từ dung dịch thử ở độ pha loãng bằng giới hạn pha loãng tối đa MVD, dẫn đến mẫu thử có độ pha loãng lớn hơn MVD ($2 \times MVD$) trong dung dịch PPC. Điều này không tuân thủ hướng dẫn thực hiện phép thử trong ĐĐVN V: pha nội độc tố trong mẫu thử ở độ pha loãng không quá MVD.

PTN 10:

- Mẫu A có độ pha loãng thực tế của mẫu thử là 8 nhỏ hơn $MVD = 16,67$, kết quả không đạt, chưa thực hiện thử nghiệm lại mẫu thử ở độ pha loãng bằng MVD, vì vậy kết luận không đạt là không phù hợp.

PTN 12:

- Dung dịch PPC (mẫu A và B): báo cáo không thể hiện thêm endotoxin (S4) vào các dung dịch PPC, đồng thời hình ảnh kết quả PTN trả về thể hiện các ống PPC

này không tạo gel hoặc gel tạo thành không chắc chắn nhưng PTN vẫn kết luận (+). Kết luận này là không phù hợp.

- Hình ảnh đọc kết quả thể hiện các dung dịch PC, PPC A, PPC B đều không tạo thành gel hoặc gel không chắc chắn; chưa thể hiện dốc ngược ống nghiệm 180 °.

PTN 13:

- Dung dịch PPC: PTN pha loãng nội độc tố 4 lần từ dung dịch thử ở độ pha loãng bằng giới hạn pha loãng tối đa MVD, dẫn đến mẫu thử có độ pha loãng lớn hơn MVD ($1,3 \times \text{MVD}$) trong dung dịch PPC. Điều này không tuân thủ hướng dẫn thực hiện phép thử trong DDVN V: pha nội độc tố trong mẫu thử ở độ pha loãng không quá MVD.

PTN 15:

- Báo cáo không thể hiện dùng mẫu thử nào để phản ứng với thuốc thử lysat (để trống mục S...).
- Dung dịch PPC: PTN pha loãng 36 lần dung dịch endotoxin gốc nồng độ 9 EU/mL bằng dung dịch mẫu thử gốc, điều này làm cho độ pha loãng của mẫu thử trong PPC là 1,02 lần; khác với độ pha loãng của mẫu thử trong dung dịch thử nghiệm là 4 lần. Điều này chưa phù hợp với hướng dẫn của DDVN V: độ pha loãng của mẫu thử trong PPC tương đương độ pha loãng của mẫu thử trong dung dịch thử nghiệm.

PTN 16:

- Báo cáo kết quả thử nghiệm: mẫu B (SB2) ghi (+), PPC B (-), không phù hợp với kết luận.

PTN 17:

- Dung dịch PPC: PTN pha loãng nội độc tố 2 lần từ dung dịch thử ở độ pha loãng bằng giới hạn pha loãng tối đa MVD, dẫn đến mẫu thử có độ pha loãng lớn hơn MVD ($2 \times \text{MVD}$) trong dung dịch PPC. Điều này không tuân thủ hướng dẫn thực hiện phép thử trong DDVN V: pha nội độc tố trong mẫu thử ở độ pha loãng không quá MVD.

- Báo cáo không thể hiện dùng mẫu thử nào để phản ứng với thuốc thử lysat (để trống mục S...).

PTN 19:

- Thiếu thông tin hạn hiệu chuẩn thiết bị sử dụng: tủ ẩm, tủ cấy, micropipet.

PTN 25:

- Dung dịch PPC: PTN pha loãng nội độc tố 2 lần từ dung dịch thử ở độ pha loãng bằng giới hạn pha loãng tối đa MVD, dẫn đến mẫu thử có độ pha loãng lớn hơn MVD ($2 \times \text{MVD}$) trong dung dịch PPC. Điều này không tuân thủ hướng dẫn thực hiện phép thử trong DDVN V: pha nội độc tố trong mẫu thử ở độ pha loãng không quá MVD.

PTN 26:

- Chưa cung cấp cách chuẩn bị dây đường chuẩn và các dung dịch PPC.

PTN 27:

- Báo cáo thể hiện sai dung dịch chuẩn nội độc tố dùng để chuẩn bị PPC: PTN sử dụng dịch CSE trước đó chưa được kí hiệu thay vì từ S4.
- Mẫu A: dùng dung dịch A1 (pha loãng 2 lần từ mẫu thử A) để phản ứng với thuốc thử lysat, dung dịch A2 (pha loãng 2 lần từ A1) không sử dụng.
- Dung dịch PPC mẫu A có độ pha loãng của mẫu thử là 4 lần (ở MVD), khác với độ pha loãng của mẫu thử trong dung dịch thử nghiệm là 2 lần. Điều này chưa phù hợp với hướng dẫn của DDVN V: độ pha loãng của mẫu thử trong PPC tương đương độ pha loãng của mẫu thử trong dung dịch thử nghiệm.
- Mẫu A có độ pha loãng thực tế của mẫu thử là 2 nhỏ hơn $\text{MVD} = 4$, kết quả không đạt, chưa thực hiện thử nghiệm lại mẫu thử ở độ pha loãng bằng MVD (dung dịch A2), vì vậy kết luận không đạt là không phù hợp.
- Mẫu B: dùng dung dịch B (không pha loãng) để phản ứng với thuốc thử lysat, dung dịch B1 (pha loãng 2 lần từ mẫu thử B) không sử dụng.
- Dung dịch PPC mẫu B có độ pha loãng của mẫu thử là 2 lần (ở $\text{MVD}/2$) khác với độ pha loãng của mẫu thử trong dung dịch thử nghiệm là 1 lần (không pha loãng). Điều này chưa phù hợp với hướng dẫn của DDVN V: độ pha loãng của

mẫu thử trong PPC tương đương độ pha loãng của mẫu thử trong dung dịch thử nghiệm

6.3. Một số vấn đề lưu ý khi tiến hành phép thử

Thiết bị, dụng cụ:

- Tất cả dụng cụ đều phải không có chứa nội độc tố.
- Dụng cụ thủy tinh hoặc bằng chất liệu chịu được nhiệt, loại chất gây sốt bằng cách sấy ở 250 °C trong ít nhất 30 phút hoặc nhiệt độ tương ứng với khoảng thời gian thích hợp. Khuyến cáo theo dõi nhiệt độ trong suốt quá trình sấy.
- Dụng cụ là chất dẻo, như các đầu hút của micropipet hay các khay lỗ để làm phản ứng, chỉ dùng các loại có chất liệu không ảnh hưởng tới phép thử và không có chứa nội độc tố.
- Thiết bị phải được hiệu chuẩn/ kiểm tra theo quy định.

Hóa chất, thuốc thử:

- Đạt yêu cầu dành cho phân tích, còn hạn sử dụng
- Nên sử dụng nước BET có kết quả nội độc tố hoặc giới hạn cho phép thấp hơn độ nhạy của thuốc thử LAL để tránh ảnh hưởng kết quả.
- Độ nhạy thuốc thử lysat sử dụng phải nhỏ hơn giới hạn nội độc tố yêu cầu.
- Cách hoàn nguyên, bảo quản, hạn sử dụng sau khi hoàn nguyên và cách pha loãng chuẩn endotoxin, thuốc thử lysat phải tuân theo khuyến cáo NSX.
- + Hãng Lonza: chuẩn endotoxin sau hoàn nguyên phải pha loãng về nồng độ 1 EU/mL bằng nước BET, trước khi dùng. Các dung dịch PC hoặc PPC được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch endotoxin nồng độ 1 EU/mL đến nồng độ 2λ bằng nước BET hoặc dung dịch mẫu thử ở độ pha loãng $\leq$ MVD.
- + Hãng CapeCod: pha loãng từ dung dịch chuẩn gốc sau khi hoàn nguyên, khuyến độ pha loãng giữa các bước càng nhỏ càng tốt, sử dụng pipet có thể tích thích hợp để tối đa hóa độ chính xác.
- + Hãng Wako Fujifilm: thực hiện dãy pha loãng từ dung dịch chuẩn gốc 1000 EU/mL. Từ nồng độ 1000 EU/mL - 1 EU/mL sử dụng bước pha loãng là 10, từ nồng độ 1 EU/mL - 2λ sử dụng bước pha loãng là 2.
- Lưu ý hạn sử dụng nội độc tố sau khi hoàn nguyên có quy định là 4 tuần, sẽ tương đương 28 ngày, không phải 1 tháng.

- Cần đánh giá độ nhạy/kiểm tra đường chuẩn mỗi khi có lô thuốc thử mới hoặc khi có sự thay đổi điều kiện thí nghiệm có thể ảnh hưởng tới kết quả của phép thử, ví dụ: thay đổi lô, nguồn gốc chuẩn nội độc tố.
- Phép thử tiến hành bằng phương pháp định lượng nội độc tố cần ghi rõ cách chuẩn bị các dung dịch mẫu thử, mẫu chứng và mẫu chứng trong dung dịch thử.

Xử lý mẫu thử:

- Mẫu thử cần được bảo quản đúng qui định
- Lắc đều mẫu thử trước khi tiến hành pha loãng
- Nên pha loãng mẫu thử đến MVD để làm giảm yếu tố ức chế/ tăng cường trong mẫu thử và đưa ra kết luận chính xác. Khi độ pha loãng mẫu thử nhỏ hơn MVD:
 - Mẫu cho kết quả đạt → kết luận đạt là phù hợp
 - Mẫu cho kết quả không đạt → kết luận không đạt là không phù hợp. Mẫu thử cần phải được pha loãng đến MVD để đánh giá kết quả.
- Cách pha PPC: dung dịch có nồng độ nội độc tố 2λ pha trong mẫu thử ở độ pha loãng $\leq$ MVD để đảm bảo mẫu thử không chứa yếu tố ảnh hưởng.
- Độ pha loãng của mẫu thử trong PPC cần phải tương đương độ pha loãng của mẫu thử trong dung dịch thử nghiệm.

Tiến hành phản ứng đối với phương pháp tạo gel:

- Sử dụng đồng lượng thể tích thuốc thử lysat với nước BET/chuẩn endotoxin/mẫu thử để phản ứng (100 μ L là thể tích khuyến cáo).
- Ủ các ống nghiệm có chứa hỗn hợp phản ứng trong một khoảng thời gian quy định theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử lysat [thường ở $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ trong (60 ± 2) phút], tránh bị rung động mạnh.

Đọc kết quả:

- Đối với phương pháp tạo gel: nhẹ nhàng dốc ngược ống nghiệm (180°)
- Phản ứng dương tính nếu gel tạo thành không bị chảy
- Phản ứng âm tính khi không tạo thành gel hoặc gel không đủ chắc, rất dễ bị rã khi dốc ngược ống nghiệm.

Báo cáo kết quả:

- Cần cung cấp đầy đủ thông tin của các thiết bị sử dụng trong phép thử, bao gồm cả tủ sấy và các thiết bị bảo quản thuốc thử.

- Cần cung cấp đầy đủ quá trình pha loãng mẫu, các dung dịch đem phản ứng với thuốc thử lysat theo biểu mẫu báo cáo.
- Cần cung cấp hình ảnh thể hiện dốc ngược ống nghiệm 180 ° khi đọc kết quả trong kỹ thuật tạo gel.
- Cần cung cấp đầy đủ thông tin về quy trình thực hiện trên thiết bị, cách chuẩn bị các dung dịch mẫu thử, đường chuẩn, PPC khi sử dụng các phương pháp định lượng.

DRAFT

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. AR 05 (2024), *Quy định về chính sách tham gia thử nghiệm thành thạo* - BoA, lần ban hành 2.24.
2. Ellison, S. L., Barwick, V. J., & Farrant, T. J. D. (2009), *Practical statistics for the analytical scientist: a bench guide*. Royal Society of Chemistry, p. 51-53.
3. ISO 13528, Edition 3 (2022), *Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison*.
4. ISO/IEC 17025 (2017), *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*.
5. ISO/IEC 17043 (2023), *Conformity assessment requirement for proficiency testing provider*.
6. Dược điển Việt Nam V (2017), Phụ lục 13.2 “*Phép thử nội độc tố vi khuẩn*”.
7. McClure et al. (2003), *Validity of the Percent Reduction in Standard Deviation Outlier Test for Screening Laboratory Means from a Collaborative Study* - Journal of AOAC International.
8. Peter-T. Wilrich (2013), *Critical values of Mandel’s h and k, the Grubbs and the Cochran test statistic* - AStA Advances in Statistical Analysis.
9. Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh (2024), *Báo cáo tổng hợp chương trình thử nghiệm thành thạo so sánh liên phòng thí nghiệm*.
10. Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương (2025), *Báo cáo tổng kết chương trình đánh giá năng lực thử nghiệm thành thạo so sánh liên phòng thí nghiệm*.