

cha/mẹ CNCTrT-VX cao nhất; độ tuổi của trẻ càng cao thì tỉ lệ cha/mẹ CNCTrT-VX càng lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. <https://covid19.gov.vn/>
2. <https://tiemchungcovid19.gov.vn/>
3. <https://ehealth.gov.vn/?action=News&newsId=54750>
4. Nguyễn Thị Hà. Một số yếu tố liên quan đến chấp nhận tiêm vắc xin phòng covid 19 của giáo viên Việt nam năm 2021. Tạp chí Y học Việt Nam, ISSN 1859-1868, tập 502 số 2 (2021).
5. Soo-Han Choi, Yoon Hee Jo, Kyo Jin Jo, Su Eun Park. Pediatric and Parents' Attitudes Towards COVID-19 Vaccines and Intention to Vaccinate for Children. Jul 29, 2021. Preventive & Social Medicine. <https://doi.org/10.3346/jkms.2021.36.e227>
6. Robin M. Humble, Hannah Sell, Eve Dubé et al. Canadian parents' perceptions of COVID-19 vaccination and intention to vaccinate their children: Results from a cross-sectional national survey . 4 October 2021 Elsevier. DOI <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.10.002>
7. Susanne Brandstetter, Merle M. Böhmer, Maja Pawellek et al. Parents' intention to get vaccinated and to have their child vaccinated against COVID-19: cross-sectional analyses using data from the KUNO-Kids health study . Accepted: 29 April 2021. European Journal of Pediatrics . <https://doi.org/10.1007/s00431-021-04094-z>
8. Ke Chun Zhang, Yuan Fang, He Cao et al. Parental Acceptability of COVID-19 Vaccination for Children Under the Age of 18 Years: Cross-Sectional Online Survey . October 2020 . JMIR Pediatrics and Parenting . DOI: 10.2196/24827

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI ENROFLOXACIN VÀ CIPROFLOXACIN TỒN DƯ TRONG THỊT GIA CẦM BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG KHỐI PHỔ

Nguyễn Thị Hồng Vân*, Trương Ngọc Hiền*, Phạm Xuân Năng*,
Nguyễn Thị Thanh Hằng*, Bùi Thị Thu Hiền*, Ngô Hồng Huệ*,
Đỗ Thị Hương Lan*, Chủ Văn Mến*

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này chúng tôi đã phát triển một phương pháp định lượng nhanh và chính xác Enrofloxacin và Ciprofloxacin tồn dư trong thịt gia cầm bằng máy sắc ký khối phổ siêu hiệu năng UPLC-MS/MS. Điều kiện của khối phổ gồm cột sắc ký: C18; 100 × 2,1 mm; 1,7 μm, pha động: ACN (0,1% acid formic) : 0,1% acid formic/H₂O(80:20) tốc độ dòng: 0,3 mL/phút, thể tích tiêm: 2μL. Phương pháp của chúng tôi đã trình bày kết quả khả quan về độ nhạy, độ chính xác và độ thu hồi của Enrofloxacin và Ciprofloxacin tồn dư trong thịt gia cầm. Phương pháp này đã được chứng minh là nhanh chóng, đáng tin cậy và lặp lại tốt để phân tích chính xác Enrofloxacin và Ciprofloxacin

Từ khóa: Enrofloxacin, Ciprofloxacin, LC/MS/MS, thịt gia cầm

SUMMARY

DEVELOPMENT OF AN LC/MS/MS METHOD FOR DETERMINATION ENROFLOXACIN AND CIPROFLOXACIN RESIDUES IN POULTRY MEAT

In this study, we developed a rapid and accurate

quantitative analysis of Enrofloxacin and Ciprofloxacin residues in poultry meat by UPLC-MS/MS. Conditions of mass spectrometry include chromatographic column: C18; 100 × 2,1mm; 1.7μm, mobile phase: ACN (0.1% Formic Acid): 0.1% Formic Acid in water (80:20), flow rate: 0.3mL/min, injection volume: 2μL. Our method presented satisfactory results in terms of sensitivity, precision, accuracy, and recovery of quantitatively analyzing simultaneous Enrofloxacin and Ciprofloxacin residues in poultry meat. This method has been proved to be fast, reliable and reproducible to accurately analyze Enrofloxacin and Ciprofloxacin.

Keywords: Enrofloxacin, Ciprofloxacin, LC/MS/MS, poultry

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc thiếu hiểu biết của người chăn nuôi khi sử dụng thuốc kháng sinh không đúng nguyên tắc dẫn đến những hậu quả nghiêm trọng như gây độc hại cho gia súc, thuốc kháng sinh còn tồn lưu trong thịt, sữa ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm chăn nuôi và việc sử dụng các thực phẩm này về lâu dài sẽ ảnh hưởng nghiêm trọng tới sức khỏe của con người.

Đã có rất nhiều phương pháp được áp dụng để định lượng Enrofloxacin, Ciprofloxacin trong thực phẩm như sắc ký lỏng hiệu năng cao ghép đầu dò UV, đầu dò huỳnh quang... Tuy nhiên các phương pháp này có độ nhạy thấp, tốn thời gian. Hiện nay, phương pháp sắc ký lỏng khối phổ được đánh giá là phương pháp có độ nhạy, độ

*Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Chủ Văn Mến

Email: chuvanmen@vmmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 01.01.2022

Ngày phản biện khoa học: 25.2.2022

Ngày duyệt bài: 2.3.2022

chọn lọc cao, chính xác, có thể phân tích đồng thời nhiều chất trong cùng một mẫu giảm chi phí và thời gian nghiên cứu đang được ứng dụng nhiều trong phân tích, định lượng các chất trong thực phẩm

Dựa trên cơ sở đó chúng tôi đã nghiên cứu xây dựng quy trình định lượng Enrofloxacin, Ciprofloxacin tồn dư trong thịt gia cầm bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ nhằm phát hiện lượng tồn dư kháng sinh trong thịt gia cầm nói riêng và các sản phẩm từ động vật nói chung.

II. PHƯƠNG PHÁP VÀ NGUYÊN VẬT LIỆU

1. Nguyên liệu. Chất chuẩn Ciprofloxacin hydroclorid (93,27%) được cung cấp bởi Viện kiểm nghiệm thuốc TW, chuẩn Enrofloxacin (99,8%) cung cấp bởi Sigma Adrich, Mỹ.

Các dung môi bao gồm Methanol, Isopropanol, Cloroform... đạt độ tinh khiết theo tiêu chuẩn của LC-MS được mua từ công ty Merk (Đức).

2. Thiết bị. Hệ thống sắc ký lỏng khối phổ LC-MS Xevo TQD (Water – Mỹ), Cân phân tích MS 205 DU (Mettler Toledo – Thụy Sĩ), Thiết bị bốc hơi dung môi có cấp khí N₂ (Thermo – Mỹ), Máy sinh khí nitơ (PEAK – Mỹ), Máy lắc vortex (IKA labdancer, Đức); Máy lắc ngang (IKA HS 260 basic, Đức).

Tất cả các thiết bị và dụng cụ phân tích được hiệu chuẩn theo quy định của ISO/IEC 17025 và GLP

3. Phương pháp

Khảo sát điều kiện sắc ký và khối phổ. Sử dụng hệ thống sắc ký khối phổ UPLC - MS/MS loại tứ cực chấp 3 với nguồn ion hóa kiểu ESI. Chọn chế độ khảo sát tự động để chọn ion mẹ, ion con dùng để định lượng, định tính. Các thông số MS/MS được tự động tối ưu bằng chế độ MS tune của thiết bị. Tiến hành khảo sát điều kiện sắc ký với cột phân tích pha đảo C18; 100 × 2,1 mm; 1,7 μm (Water – Mỹ).

Dựa vào các tài liệu tham khảo, lựa chọn pha động gồm hai thành phần: pha A là acetonitril (0,1% acid formic) nước (0,1% acid formic) và pha B là nước (0,1% acid formic). Lựa chọn chế độ đẳng dòng. Thay đổi tỷ lệ thành phần pha động. Pha động được chọn phải đảm bảo pic cần phân tích trong sắc ký đồ tách rõ ràng, không bị chập với các pic nhiễu khác, ít bị doãng pic, thời gian lưu hợp lý.

Khảo sát xử lý mẫu thịt gà. Cân m gam thịt gà đã xay nhuyễn cho vào ống ly tâm 50 mL. Thêm dung dịch acetonitril/TCA 4% trong nước cất (70/30) vào các mẫu đã chuẩn bị, chiết 2 lần mỗi lần 10 mL và 5 mL, lắc vortex 10 phút. Ly tâm 15 phút ở tốc độ 4000 vòng/ phút. Gộp dịch

chiết thu được cô chân không đến khi còn khoảng 5 mL dịch chiết, thêm 5 mL nước cất.

Dịch chiết trên được làm sạch bằng cột SPE Oasis HLB 6 ml/200mg. Hoạt hóa cột bằng 5 mL MeOH, 5mL nước cất, sau đó cho đệm chiết mẫu acetonitril/TCA 4% trong nước cất (70/30). Nạp mẫu lên cột, tốc độ 1 mL/phút. (Không để khô cột giai đoạn cho mẫu lên cột và rửa cột). Rửa tạp bằng 4 mL nước cất, sau đó rửa tiếp bằng 4 mL MeOH. Rửa giải bằng Acetonitril. Dung dịch rửa giải được thổi khô bằng khí N₂ ở 40°C. Hòa tan căn khô bằng 1 mL pha động, lắc xoay 30s và lọc qua màng lọc 0,45μm. Dịch lọc được phân tích bằng máy UPLC/MS/MS.

Mẫu đường chuẩn (CC) và giới hạn định lượng dưới (LLOQ):

- Dung dịch chuẩn gốc Enrofloxacin và Ciprofloxacin được pha trong MeOH (SS) (100μg/mL). Các dung dịch chuẩn làm việc được pha từ dung dịch SS trong MeOH có nồng độ là 10000ng/mL

- Chuẩn bị các dung dịch chuẩn kiểm tra làm việc trung gian (QC-W) có nồng độ 1000 ng/mL (QC-W1) và 50 ng/mL (QC-W2) bằng cách pha loãng dung dịch chuẩn gốc kiểm tra bằng methanol.

Đường chuẩn: Các mẫu đường chuẩn trong nền mẫu (có nồng độ từ 0,5, 5, 10, 20, 50, 100, 150ng) được chuẩn bị bằng cách thêm các dung dịch chuẩn làm việc trong methanol (WS) tương ứng vào các mẫu thịt gà trắng, rồi xử lý mẫu theo quy trình ở trên. Đường chuẩn bao gồm: 1 mẫu trắng và 7 mẫu đường chuẩn.

Các mẫu kiểm tra: Thêm các dung dịch chuẩn kiểm tra trong methanol (QC-W) vào mẫu thịt gà trắng rồi xử lý theo quy trình để tạo ra các mẫu kiểm tra có nồng độ LQC = 2-3 x LLOQ; MQC (gần điểm giữa đường chuẩn) và HQC = 75% - 90% ULOQ.

Thẩm định phương pháp phân tích. Tiến hành thẩm định quy trình định lượng đồng thời Enrofloxacin và Ciprofloxacin tồn dư trong thịt gia cầm bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ LC-MS/MS theo các chỉ tiêu quy định trong USP [5,6] hiện hành và các quy định về thẩm định phương pháp phân tích: độ đặc hiệu - chọn lọc, độ đúng - độ chính xác, khoảng tuyến tính, giới hạn định lượng dưới, tỉ lệ thu hồi, ảnh hưởng nền mẫu, độ nhiễm chéo, độ ổn định.

Phương pháp xử lý số liệu. Giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối, phương trình hồi quy, hệ số tương quan hồi quy được xác định bằng phần mềm Microsoft Excel 2010.

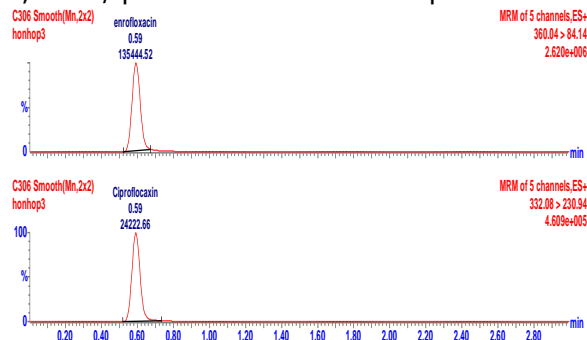
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Kết quả lựa chọn điều kiện sắc ký lỏng khối phổ. Tiến hành khảo sát xác định các ion bằng kỹ thuật ion hóa phun điện tử ESI với chế độ bắn phá ion dương. Để tối ưu hóa điều kiện khối phổ, tiêm trực tiếp dung dịch chuẩn Enrofloxacin và Ciprofloxacin nồng độ 1 µg/mL vào khối phổ. Chọn chế độ ESI (+), lựa chọn ion mẹ có dạng [M+H]⁺, sau đó phân mảnh ion mẹ để thu được ion con. Ion con có cường độ cao nhất được lựa chọn để định lượng. Lựa chọn chế độ tự động điều chỉnh các thông số của thiết bị phân tích khối phổ. Xác định các thông số tối ưu của khối phổ, kết quả được trình bày ở bảng

Bảng 1: Thông số của detector khối phổ

| Các điều kiện khối phổ | Enrofloxacin | Ciprofloxacin |
|------------------------------|--------------|---------------|
| Chế độ ion hóa | ESI (+) | ESI (+) |
| Điện thế mao quản (kV) | 3 | 3 |
| Điện thế hội tụ (V) | 44 | 44 |
| Nhiệt độ hóa hơi (°C) | 360 | 360 |
| Lưu lượng khí hóa hơi (L/Hr) | 800 | 800 |
| Lưu lượng khí hội tụ (L/Hr) | 25 | 25 |
| Năng lượng va chạm (eV) | 12 | 12 |
| Ion ban đầu (Dalton) | 441,3 | 359,4 |
| Ion tạo thành (Dalton) | 360,04 | 332,08 |

Xác định các điều kiện sắc ký. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng cột ACQUITY UPLC[®] BHE C₁₈ (2,1×100 mm; 1,7 µm). Pha tĩnh sử dụng là cột C18 ít phân cực nên pha động là dung môi phân cực. Qua tham khảo tài liệu chúng tôi lựa chọn hệ dung môi pha động gồm các thành phần: acetonitril (0,1% acid formic) và nước (0,1% acid formic) (80:20). Tốc độ dòng 0,25 mL/ phút. Thể tích tiêm mẫu 2µL.



Hình 1: Sắc ký đồ của Ciprofloxacin và Enrofloxacin sau khảo sát

Kết quả lựa chọn phương pháp xử lý mẫu. Phương pháp chiết pha rắn: quy trình xử lý mẫu cho tỷ lệ thu hồi hoạt chất cao (khoảng 88%). Lựa chọn khối lượng thịt gà là 1g và thể tích ACN rửa giải là 4 mL.

Kết quả thẩm định phương pháp phân tích Sự phù hợp của hệ thống sắc ký. Các pic lặp lại 6 lần của hỗn hợp gồm ENRO và CIPRO đều tách rõ ràng khỏi hỗn hợp trong sắc ký đồ, đều có pic cân đối và cường độ lớn. Thời gian lưu của cả hai kháng sinh nghiên cứu ở 6 lần phân tích đều là 0,588 ± 0,004 phút, các lần phân tích có sự lặp lại với CV(%) là 0,68% < 2% nên đạt yêu cầu. Đáp ứng pic của ENR và CIPRO giữa các lần phân tích có sự lặp lại với CV(%) lần lượt là: 4,02% và 0,68% đều < 5%, đạt yêu cầu.

Độ chọn lọc - đặc hiệu. Từ các kết quả phân tích cho thấy, đáp ứng pic của mẫu trắng tại thời điểm trùng với thời gian lưu của ENR và CIPRO lần lượt bằng 2,37%; 9,38% so với đáp ứng pic của mẫu chuẩn có chứa hỗn hợp ENR và CIPRO ở nồng độ LLOQ (0,5 ng/mL), nằm trong giới hạn cho phép (≤ 20%), đạt yêu cầu. Như vậy, phương pháp định lượng đồng thời hai kháng sinh enrofloxacin và ciprofloxacin đã xây dựng đáp ứng yêu cầu về độ chọn lọc – đặc hiệu theo quy định.

Giới hạn định lượng dưới (LLOQ). Tại thời gian lưu của ENRO, pic của hỗn hợp mẫu chuẩn chứa Enrofloxacin pha trong nền mẫu ở nồng độ khoảng 0,5ng/mL cho đáp ứng pic lớn gấp 42 lần so với đáp ứng pic mẫu trắng. Các mẫu LLOQ có độ đúng so với nồng độ thực của nó trong mẫu từ 82,21% - 105,98% (nằm trong khoảng quy định từ 80 – 120%) và có độ chính xác với CV% bằng 11,56% nhỏ hơn giá trị cho phép (<20%). Tại thời gian lưu của CIPRO, pic của hỗn hợp mẫu chuẩn chứa CIPRO pha trong nền mẫu ở nồng độ khoảng 0,5 ng/mL cho đáp ứng pic lớn gấp khoảng 10 lần so với đáp ứng pic mẫu trắng. Các mẫu LLOQ có độ đúng so với nồng độ thực của nó trong mẫu từ 93,58% - 108,60% (nằm trong khoảng quy định từ 80 – 120%) và có độ chính xác với CV% bằng 7,01% nhỏ hơn giá trị cho phép (<20%). Do đó, hỗn hợp mẫu chuẩn chứa enrofloxacin và ciprofloxacin ở nồng độ khoảng 0,5 ng/mL đáp ứng yêu cầu về giới hạn định lượng dưới của phương pháp phân tích theo quy định.

Đường chuẩn và khoảng tuyến tính. Kết quả cho thấy: CIPRO và ENRO có khoảng tuyến tính từ 0,5 ng/mL đến 150 ng/mL, giữa nồng độ thực của các kháng sinh và diện tích pic, với R > 0,99; R² > 0,99. Nồng độ của cả hai kháng sinh xác định từ đường chuẩn so với giá trị lý thuyết nằm trong khoảng từ 89,39% - 108,91% và đều nằm trong giới hạn cho phép là 80 – 120% đối với nồng độ thấp nhất: 85 – 115% cho các nồng độ còn lại. Như vậy, đường chuẩn và khoảng

tuyến tính đáp ứng các tiêu chuẩn theo quy định.

Độ đúng và độ chính xác. Độ đúng, độ chính xác trong ngày và khác ngày

Phân tích các mẫu QC_s đã chuẩn bị đồng thời với đường chuẩn pha trong MeOH trong cùng điều kiện (nồng độ định lượng được là nồng độ các mẫu QC_s tính theo phương trình hồi quy của đường chuẩn thu được). Xác định nồng độ các mẫu QC_s từ phương trình hồi quy thu được.

Độ đúng và độ chính xác trong ngày: giá trị độ đúng tại mỗi nồng độ nằm trong khoảng 85,4% - 111,7%, đạt yêu cầu trong khoảng 85% - 115%, ngoại trừ tại nồng độ LLOQ, có giá trị độ đúng trong khoảng 80,8% - 93,7% nhưng vẫn đạt yêu

cầu vì ở nồng độ LLOQ chấp nhận nằm trong khoảng 80% - 120%.

Độ đúng và độ chính xác khác ngày: giá trị độ đúng tại mỗi nồng độ qua 5 ngày khác nhau nằm trong khoảng 85,4% - 114,8% đạt yêu cầu là trong khoảng 85% - 115%, riêng ở nồng độ LLOQ độ đúng trong khoảng 81,7% - 115,3% đạt yêu cầu trong khoảng 80% - 120%. Như vậy, phương pháp phân tích đáp ứng được các tiêu chuẩn của phân tích.

Độ nhiễm chéo. Kết quả đánh giá độ nhiễm chéo được trình bày ở bảng dưới. Độ nhiễm chéo của AS: tỷ lệ đáp ứng đều < 20%, đạt, Độ nhiễm chéo của IS: tỷ lệ đáp ứng đều < 5%, đạt.

Bảng 2: Đánh giá độ nhiễm chéo

| Chất phân tích | STT | Đáp ứng pic | | | Tỷ lệ đáp ứng | Đạt/không đạt |
|----------------|--------|-------------|-----------|----------|---------------|---------------|
| | | Mẫu trắng | Mẫu ULOQ | Mẫu LLOQ | | |
| ENRO | 1 | 159,44 | 348386,79 | 7124,60 | 2,24 | Đạt |
| | 2 | 220,51 | 316559,33 | 6775,80 | 3,25 | Đạt |
| | 3 | 185,41 | 322069,88 | 6812,65 | 2,72 | Đạt |
| | 4 | 237,09 | 310837,53 | 7036,16 | 3,37 | Đạt |
| | 5 | 245,73 | 310513,13 | 7088,48 | 3,47 | Đạt |
| | 6 | 170,16 | 319391,35 | 6985,43 | 2,44 | Đạt |
| | CV (%) | 17,64 | 4,37 | 2,08 | 17,80 | Đạt |
| CIPRO | 1 | 80,23 | 52652,77 | 1019,39 | 7,87 | Đạt |
| | 2 | 127,35 | 53605,80 | 1003,06 | 12,70 | Đạt |
| | 3 | 110,02 | 54109,72 | 1000,36 | 11,00 | Đạt |
| | 4 | 90,18 | 52257,19 | 1017,32 | 8,86 | Đạt |
| | 5 | 112,99 | 55481,05 | 994,42 | 11,36 | Đạt |
| | 6 | 105,79 | 53159,59 | 995,30 | 10,63 | Đạt |
| | CV (%) | 16,14 | 2,16 | 1,08 | 16,85 | Đạt |

Tỷ lệ thu hồi. Các giá trị CV% của MF ở cả mẫu LQC (ENRO: 3,95%; CIPRO: 4,30%) và HQC (ENRO: 4,24%; CIPRO: 2,87%) đều đạt yêu cầu ≤ 15%. Như vậy, phương pháp phân tích thích hợp đáp ứng yêu cầu về ảnh hưởng của nền mẫu với hỗn hợp kháng sinh enrofloxacin và ciprofloxacin.

Ảnh hưởng của nền mẫu. Giá trị CV% của MF trên 6 lô nền mẫu của mỗi nồng độ đều ≤

15%. Đáp ứng pic của dung dịch chuẩn thêm vào nền mẫu sau xử lý gần giống đáp ứng pic của các mẫu tương ứng trong pha động, điều này chứng tỏ không có hiệu ứng nền trong giai đoạn tạo ion ở đầu dò khối phổ. Do đó phương pháp phân tích đang sử dụng đạt yêu cầu về ảnh hưởng của nền mẫu.

Độ ổn định. Kết quả độ ổn định thu được như sau. Độ ổn định của dung dịch chuẩn gốc

Bảng 3: Độ ổn định của dung dịch chuẩn gốc

| STT | ENRO(100 µg/mL) | | CIPRO(100 µg/mL) | |
|-------------|-----------------|-------------------|------------------|-------------------|
| | Ban đầu (0 giờ) | 7 ngày; 2°C - 8°C | Ban đầu (0 giờ) | 7 ngày; 2°C - 8°C |
| 1 | 94,82 | 98,31 | 93,33 | 96,62 |
| 2 | 95,39 | 96,17 | 91,39 | 95,47 |
| 3 | 92,88 | 99,56 | 94,08 | 97,56 |
| Trung bình | 94,36 | 98,01 | 92,93 | 96,55 |
| CV (%) | 1,39 | 1,75 | 1,49 | 1,08 |
| Độ lệch (%) | - | 3,87 | - | 3,90 |
| Kết luận | - | Đạt | - | Đạt |

Bảng 4: Độ ổn định của dung dịch chuẩn làm việc

| Chất phân tích | STT | Nồng độ (ng/mL) | | | |
|----------------|-----|-------------------------|-----------|-------------------------|-----------|
| | | Nồng độ LQC (1,2 ng/mL) | | Nồng độ HQC (120 ng/mL) | |
| | | Ban đầu (0 giờ) | Sau 6 giờ | Ban đầu (0 giờ) | Sau 6 giờ |
| ENRO | | | | | |

| | | | | | |
|--------------|-------------|------|------|--------|--------|
| | 1 | 1,18 | 1,24 | 117,06 | 119,97 |
| | 2 | 1,22 | 1,29 | 119,27 | 118,55 |
| | 3 | 1,19 | 1,31 | 116,84 | 121,86 |
| | TB | 1,20 | 1,28 | 117,72 | 120,13 |
| | CV (%) | 1,74 | 2,82 | 1,14 | 1,38 |
| | Độ lệch (%) | 6,67 | | 2,05 | |
| | Kết luận | Đạt | | Đạt | |
| CIPRO | 1 | 1,12 | 1,18 | 115,42 | 116,56 |
| | 2 | 1,15 | 1,17 | 111,09 | 119,87 |
| | 3 | 1,13 | 1,19 | 112,22 | 121,08 |
| | TB | 1,13 | 1,18 | 112,91 | 119,17 |
| | CV (%) | 1,35 | 1,30 | 1,46 | 1,96 |
| | Độ lệch (%) | 4,42 | | 5,54 | |
| | Kết luận | Đạt | | Đạt | |

Nồng độ dung dịch chuẩn làm việc ở mỗi nồng độ của hai kháng sinh nghiên cứu sau 6 giờ so với nồng độ dung dịch ban đầu đều khác nhau < 15%. Giá trị CV% giữa các mẫu đều < 15% (Như vậy, dung dịch chuẩn làm việc ổn định trong thời gian ngắn 6 giờ.

Độ ổn định của mẫu thịt gà

Độ ổn định của các mẫu thịt gà ở các điều kiện khác nhau được trình bày ở bảng dưới đây

Bảng 5: Độ ổn định của mẫu ở nhiệt độ phòng, auto sampler, 3 chu kỳ đông - rã đông

| STT | Nồng độ (ng/mL) | | | | | | |
|------------------------|-----------------|-----------|-------------|------------|------------------|--------------|--------|
| | Nhiệt độ phòng | | Autosampler | | 3 chu kỳ đông-rã | | |
| | Ban đầu | Sau 6 (h) | Tiếp ngay | Sau 24 (h) | Ban đầu | Sau 3 chu kỳ | |
| LQC (1,2 ng/mL) | 1 | 1,19 | 1,24 | 1,19 | 1,27 | 1,19 | 1,22 |
| | 2 | 1,16 | 1,18 | 1,16 | 1,32 | 1,16 | 1,19 |
| | 3 | 1,12 | 1,27 | 1,12 | 1,22 | 1,12 | 1,25 |
| | 4 | 1,21 | 1,23 | 1,21 | 1,29 | 1,21 | 1,17 |
| | 5 | 1,24 | 1,26 | 1,24 | 1,33 | 1,24 | 1,26 |
| | 6 | 1,18 | 1,22 | 1,18 | 1,17 | 1,18 | 1,20 |
| TB | 1,18 | 1,23 | 1,18 | 1,27 | 1,18 | 1,22 | |
| CV (%) | 3,49 | 2,60 | 3,49 | 4,86 | 3,49 | 2,89 | |
| Độ lệch (%) | 4,24 | | 7,63 | | 3,39 | | |
| HQC (120 ng/mL) | 1 | 104,26 | 108,93 | 104,26 | 110,05 | 104,26 | 108,59 |
| | 2 | 105,45 | 111,83 | 105,45 | 115,27 | 105,45 | 113,07 |
| | 3 | 110,37 | 114,76 | 110,37 | 117,39 | 110,37 | 117,42 |
| | 4 | 115,68 | 118,33 | 115,68 | 121,88 | 115,68 | 122,45 |
| | 5 | 119,71 | 120,05 | 119,71 | 123,46 | 119,71 | 123,03 |
| | 6 | 117,09 | 121,78 | 117,09 | 119,92 | 117,09 | 116,15 |
| TB | 112,09 | 115,95 | 112,09 | 117,99 | 112,09 | 116,79 | |
| CV (%) | 5,70 | 4,30 | 5,70 | 4,14 | 5,70 | 4,73 | |
| Độ lệch (%) | 3,44 | | 5,26 | | 4,19 | | |
| Kết luận | Đạt | | Đạt | | Đạt | | |

Bảng 6: Độ ổn định của mẫu thịt gà

| STT | CIPRO (ng/mL) | | | | | | |
|------------------------|----------------|-----------|-------------|-----------|------------------|--------------|------|
| | Nhiệt độ phòng | | Autosampler | | 3 chu kỳ đông-rã | | |
| | Ban đầu | Sau 6 (h) | Tiếp ngay | Sau 24(h) | Ban đầu | Sau 3 chu kỳ | |
| LQC (1,2 ng/mL) | 1 | 1,04 | 1,13 | 1,04 | 1,16 | 1,04 | 1,19 |
| | 2 | 1,08 | 1,15 | 1,08 | 1,15 | 1,08 | 1,16 |
| | 3 | 1,11 | 1,14 | 1,11 | 1,18 | 1,11 | 1,19 |
| | 4 | 1,14 | 1,10 | 1,14 | 1,08 | 1,14 | 1,11 |
| | 5 | 1,12 | 1,08 | 1,12 | 1,17 | 1,12 | 1,18 |
| | 6 | 1,07 | 1,16 | 1,07 | 1,10 | 1,07 | 1,05 |
| TB | 1,09 | 1,13 | 1,09 | 1,14 | 1,09 | 1,15 | |
| CV (%) | 3,36 | 2,73 | 3,36 | 3,55 | 3,36 | 4,89 | |
| Độ lệch (%) | 8,41 | | 4,11 | | 5,05 | | |

| | | | | | | | |
|--------------------------------|----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| HQC (120 ng/mL) | 1 | 102,87 | 117,56 | 102,87 | 119,83 | 102,87 | 125,88 |
| | 2 | 111,35 | 113,44 | 111,35 | 124,59 | 111,35 | 120,29 |
| | 3 | 115,45 | 112,22 | 115,45 | 114,38 | 115,45 | 118,12 |
| | 4 | 107,04 | 105,97 | 107,04 | 122,91 | 107,04 | 128,05 |
| | 5 | 108,71 | 115,01 | 108,71 | 108,11 | 108,71 | 116,72 |
| | 6 | 113,29 | 108,33 | 113,29 | 127,21 | 113,29 | 129,25 |
| TB | | 109,79 | 112,09 | 109,79 | 119,51 | 109,79 | 123,05 |
| CV (%) | | 4,14 | 3,82 | 4,14 | 5,95 | 4,14 | 4,35 |
| Độ lệch (%) | | 2,09 | | 8,85 | | 12,08 | |
| Kết luận | | Đạt | | Đạt | | Đạt | |

| Chất phân tích | Mẫu | Nồng độ (ng/mL) | | | | | |
|-------------------------------|-------------|-------------------------|-------------------|--------------------|------------------------|-------------------|--------------------|
| | | LQC (1,2 ng/mL) | | | HQC (120 ng/mL) | | |
| | | Ban đầu | Sau 7 ngày | Sau 30 ngày | Ban đầu | Sau 7 ngày | Sau 30 ngày |
| ENRO | 1 | 1,19 | 1,22 | 1,24 | 104,26 | 112,74 | 108,48 |
| | 2 | 1,16 | 1,17 | 1,28 | 105,45 | 122,67 | 105,96 |
| | 3 | 1,12 | 1,19 | 1,19 | 110,37 | 116,82 | 107,50 |
| | 4 | 1,21 | 1,25 | 1,18 | 115,68 | 119,77 | 112,98 |
| | 5 | 1,24 | 1,24 | 1,20 | 119,71 | 123,48 | 120,06 |
| | 6 | 1,18 | 1,27 | 1,26 | 117,09 | 128,32 | 119,77 |
| | TB | 1,18 | 1,22 | 1,23 | 112,09 | 120,63 | 114,13 |
| | CV (%) | 3,49 | 3,09 | 3,34 | 5,70 | 4,52 | 4,76 |
| | Độ lệch (%) | - | 3,39 | 4,24 | - | 7,62 | 1,82 |
| | Kết luận | | Đạt | | Đạt | | Đạt |
| CIPRO | 1 | 1,04 | 1,22 | 1,16 | 102,87 | 128,30 | 117,85 |
| | 2 | 1,08 | 1,25 | 1,19 | 111,35 | 125,88 | 114,20 |
| | 3 | 1,11 | 1,18 | 1,23 | 115,45 | 122,41 | 106,15 |
| | 4 | 1,14 | 1,15 | 1,13 | 107,04 | 132,18 | 118,80 |
| | 5 | 1,12 | 1,17 | 1,17 | 108,71 | 116,59 | 124,94 |
| | 6 | 1,07 | 1,09 | 1,08 | 113,29 | 115,03 | 119,67 |
| | TB | 1,09 | 1,18 | 1,16 | 109,79 | 123,52 | 116,94 |
| | CV (%) | 3,36 | 4,74 | 4,43 | 4,14 | 5,29 | 5,40 |
| | Độ lệch (%) | - | 7,95 | 6,42 | - | 12,50 | 6,51 |
| | Kết luận | | Đạt | | Đạt | | Đạt |

Kết quả thu được ở các bảng trên cho thấy rằng biến thiên nồng độ của mẫu thịt gà đều nằm trong phạm vi $\leq 15\%$, đạt yêu cầu. Giá trị CV% giữa các kết quả định lượng ở mỗi nồng độ đều $\leq 15\%$, đạt yêu cầu. Do đó, các mẫu thịt gà ổn định ở nhiệt độ phòng sau 6 giờ, trong autosampler sau 24 giờ, sau 3 chu kỳ đông – rã và sau bảo quản dài ngày (30 ngày).

V. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng Enrofloxacin và Ciprofloxacin tồn dư trong thịt gia cầm bằng máy sắc ký khối phổ siêu hiệu năng UPLC-MS/MS. Điều kiện của khối phổ gồm cột sắc ký: C18; $100 \times 2,1$ mm; $1,7 \mu\text{m}$, pha động: ACN: 0,1% acid formic/H₂O (90:10) tốc độ dòng: 0,3 mL/phút, thể tích tiêm:

2 μL . Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp phân tích bằng sắc ký lỏng khối phổ có độ chọn lọc – độ đặc hiệu với Enrofloxacin và Ciprofloxacin. Phương pháp có chính xác, tin cậy cao với giới hạn định lượng dưới thấp (LLOQ = 0,5 ng/mL). Có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ hai kháng sinh nghiên cứu và diện tích pic trong khoảng nồng độ từ 0,5 – 150 ng/mL, với $R^2 > 0,99$. Phương pháp có độ đúng đạt yêu cầu (dao động trong khoảng từ 86,46 – 113,81%), độ chính xác cao với giá trị CV% từ 6,16 – 8,75%. Tỷ lệ thu hồi cao của phương pháp đạt từ 87,26% - 95,80%. Độ nhiễu chéo và độ ổn định đáp ứng các yêu cầu về phân tích.

Số liệu của bài báo là một phần kết quả nghiên cứu của đề tài cấp Nhà nước "Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật MS-MS độ nhạy cao và

Multiplex Realtime PCR thế hệ mới để phát hiện tác nhân hóa học và sinh học gây hại sức khỏe trong một số thực phẩm”, mã số đề tài ĐTĐL.CN-06/19

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ Y tế (2018)**, Dược thư quốc gia Việt Nam, NXB Y học.
2. **Jaekyu Shin., Daniel F. Pauly., Julie A. Johnson., Reginal F. Frye (2008)**, “Simplified method for determination of clarithromycin in human plasma using protein precipitation in a 96 - well format and liquid chromatography - tandem mass spectrometry”, Journal of Chromatography B

- 871, pp.130 - 134.
3. **Xiumei Lu., Lingyun Chen., Dong Wang., Juan Liu., Yanjuan Wang., Famei Li (2008)**, “Quantification of Clarithromycin in Human Plasma by UPLC - MS - MS”, Shenyang Pharmaceutical University, June 2008.
4. **Syed N Alvi., Saleh Al Dgither and Muhamad M Hammami (2016)**, “Rapid Determination of Clarithromycin in Human Plasma by LCMS/MS Assay”, Pharmaceutical Analytical Chemistry Open Access, pp 2471 - 2695.
5. **Guidance for industry** - Bioanalytical method validation, FDA 2018.
6. **Guidance** on Bioanalytical method validation, EMA 2012.

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM CÁC MỐC GIẢI PHẪU VÙNG XƯƠNG BÀN VUÔNG QUA NỘI SOI XÁC TƯƠI NGƯỜI VIỆT NAM TRƯỞNG THÀNH

Nguyễn Đình Tú*, Ngô Văn Công**, Trần Minh Trường**

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Vùng xương bàn vuông một khu vực nhỏ, trung tâm của nền sọ với khả năng tiếp cận phẫu thuật hạn chế và tỉ lệ mắc bệnh cao liên quan đến bệnh lý của các cấu trúc xung quanh. Hiện nay, các nghiên cứu về giải phẫu qua nội soi ứng dụng còn ít. Đặc biệt, mỗi chủng tộc lại có hình thái, cấu trúc thay đổi khác nhau. Vì vậy, nghiên cứu về đặc điểm các mốc giải phẫu của các khu vực này trên nội soi là cần thiết. **Mục tiêu:** Nghiên cứu đặc điểm các mốc giải phẫu vùng xương bàn vuông qua nội soi phẫu tích xác tươi. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu cắt ngang mô tả. Từ tháng 9/2020 đến tháng 6/2021, chúng tôi phẫu tích 10 xác tươi tại bộ môn Giải Phẫu – Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh và ghi lại đặc điểm các mốc giải phẫu vùng xương bàn vuông. **Kết quả:** Khoảng cách trung bình từ gai mũi trước tới thành sau xoang bướm, lồi động mạch cảnh, lồi thần kinh thị, góc cạnh thị lần lượt là $79,05 \pm 7,72$ mm, $76,18 \pm 4,58$ mm, $75,2 \pm 5,79$ mm, $79,4 \pm 6,04$ mm. Chiều dài động mạch cảnh trong là $13,85 \pm 2,03$ mm. Đường kính động mạch cảnh trong là $5,68 \pm 0,85$ mm. Khoảng cách giữa 2 động mạch cảnh trong là $20,03 \pm 1,98$ mm. **Kết luận:** Đặc điểm các mốc giải phẫu vùng xương bàn vuông cung cấp các khoảng cách an toàn trong phẫu thuật. Nắm rõ các đặc điểm này giúp chỉ dẫn và giảm thiểu các biến chứng khi thực hiện phẫu thuật tại các vùng này.

Từ khóa: Xương bàn vuông, động mạch cảnh trong, lồi động mạch cảnh, lồi thần kinh thị, góc cạnh thị

SUMMARY

ENDOSCOPIC ANATOMICAL LANDMARK OF THE CLIVUS REGION IN VIETNAMESE ADULT CADAVERS

Background: The clivus region are a small, central region of the skull base with limited surgical access and high morbidity associated with pathology of surrounding structures. In Viet Nam, studies relating to the anatomy of the clivus region and pterygopalatine fossa still have limitations. In particular, each race has a different morphology and structure. Therefore, the study on the characteristics of anatomical landmarks of these areas on endoscopic examination is necessary. **Objectives:** To study the characteristics of anatomical landmarks in the clivus region through endoscopic dissection of fresh carcasses. **Methods:** Cross-sectional descriptive study. From September 2020 to June 2021, we examined 10 fresh cadaveric samples at The Anatomy Department – University of Medicine and Pharmacy at HCM city and recorded the characteristics of anatomical landmarks. **Results:** Mean distance between the anterior nasal spine and the posterior wall of sphenoid sinus, carotid artery protuberance, optic protuberance, lateral opticalcarotid recess was $79,05 \pm 7,72$ mm, $76,18 \pm 4,58$ mm, $75,2 \pm 5,79$ mm, $79,4 \pm 6,04$ mm. The length of the internal carotid artery is 13.85 ± 2.03 mm. The diameter of the internal carotid artery is 5.68 ± 0.85 mm. The distance between the two internal carotid arteries is 20.03 ± 1.98 mm. **Conclusions:** The characteristics of the anatomical landmarks of the clivus region provide safe surgical distances. Understanding these characteristics helps guide and minimize complications when performing surgery in these areas.

Keywords: clivus, internal carotid artery, carotid artery protuberance, optic protuberance, lateral opticalcarotid recess

*Đại học Y Dược TP HCM

**Bệnh viện Chợ Rẫy

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Đình Tú

Email: tunguyendinhbs@gmail.com

Ngày nhận bài: 3.01.2022

Ngày phản biện khoa học: 28.2.2022

Ngày duyệt bài: 3.3.2022